



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
NÍVEL DOUTORADO



**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS ADESIVOS AUTOCONDICIONANTES
BIOATIVOS: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ANÁLISE DA
INTERFACE DE UNIÃO E BIOATIVIDADE**



**SÃO LUÍS
2019**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
NÍVEL DOUTORADO

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS ADESIVOS
AUTOCONDICIONANTES BIOATIVOS: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-
QUÍMICA, ANÁLISE DA INTERFACE DE UNIÃO E BIOATIVIDADE**

**SÃO LUÍS
2019**

EDILAUSSON MORENO CARVALHO

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS ADESIVOS AUTOCONDICIONANTES
BIOATIVOS: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ANÁLISE DA
INTERFACE DE UNIÃO E BIOATIVIDADE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Odontologia.

Orientador: José Roberto de Oliveira Bauer

**SÃO LUÍS
2019**

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Carvalho, Edilausson Moreno.

Desenvolvimento de sistemas adesivos autocondicionantes bioativos : caracterização físico-química, análise da interface de união e bioatividade / Edilausson Moreno Carvalho. - 2019.

64 p.

Orientador(a): Bauer José Roberto de Oliveira.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Odontologia/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

1. Adesivos Dentinários. 2. Dentina. 3. Materiais Biocompatíveis. 4. Materiais Dentários. I. José Roberto de Oliveira, Bauer. II. Título.

EDILAUSSON MORENO CARVALHO

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS ADESIVOS AUTOCONDICIONANTES
BIOATIVOS: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ANÁLISE DA
INTERFACE DE UNIÃO E BIOATIVIDADE**

A Comissão julgadora da Defesa do Trabalho Final de Doutorado em Odontologia, em sessão pública realizada no dia 28/11/2019 considerou o candidato:

() APROVADO

() REPROVADO

1) Examinador: Profa. Dra. Ceci Nunes Carvalho

2) Examinador: Prof. Dr. Rudys Rofoldo de Jesus Tavares

3) Examinador: Prof. Dr. José Ferreira Costa

4) Examinador: Prof. Dr. Darlon Martins Lima

5) Presidente (Orientador): Prof. Dr. José Roberto de Oliveira Bauer

*“O começo de todas as ciências é o
espanto de as coisas serem o que
são”*

Aristóteles

AGRADECIMENTOS

À Deus, por guiar e guardar minha vida.

Aos meus pais, Maria Inácia e Edilson, pelo apoio e incentivo durante todos esses anos de Graduação e Pós-Graduação.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Roberto de Oliveira Bauer, pela dedicação à docência, pela oportunidade dada para colaborar em diversas pesquisas, pela amizade e o empenho em produzir conhecimento científico de relevância. Muito obrigado!

Ao programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Maranhão, coordenado pela Prof^a. Dr^a. Cecilia Claudia Costa Ribeiro de Almeida, pelo suporte oferecido durante todo o curso.

A todos os docentes do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Maranhão, que sempre estiveram à disposição para colaborar no aprimoramento dos trabalhos desenvolvidos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Ensino Superior – CAPES, pela bolsa de doutorado concedida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão – FAPEMA (Processos PRONEM – 01628/14, UNIVERSAL – 00713/17 e BEPP – 01087/18), pelo fomento concedido.

Ao Prof. Dr. Auro Atsushi Tanaka, professor do Departamento de Química da Universidade Federal do Maranhão, pela ajuda com ensaios de caracterização dos compostos bioativos.

Ao Prof. Dr. Alan Silva de Menezes, professor do Departamento de Física da Universidade Federal do Maranhão, pelo auxílio na execução dos ensaios de difração de Raios-X.

A Paulo Vitor Campos Ferreira, doutorando do Programa de Pós-Graduação em Materiais Dentários da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela amizade e grande colaboração no desenvolvimento dos sistemas adesivos bioativos.

A minha namorada, Alina Braga, pela amizade, companheirismo e todo suporte dado durante a fase final do doutorado.

Aos técnicos dos diversos laboratórios da Universidade Federal do Maranhão onde foram realizados os ensaios deste trabalho, pela colaboração durante a coleta de dados.

Aos colegas do laboratório de Materiais Dentários, pela amizade e apoio durante todo esse tempo que trabalhamos juntos.

A todos os amigos e colegas do mestrado e doutorado, pelos bons momentos que passamos durante essa jornada.

RESUMO

Objetivo: Desenvolver e avaliar propriedades físico-químicas, mecânicas e biológicas de sistemas adesivos autocondicionantes experimentais contendo micropartículas de diferentes vidros bioativos (45S5 e um vidro experimental à base de nióbio - NbG).

Materiais e métodos: Os vidros 45S5 e NbG foram moídos a seco, em um moinho do tipo planetário, para obtenção de micropartículas com tamanho aproximado de 5 μm . Foram desenvolvidos sistemas adesivos autocondicionantes experimentais de dois passos contendo 5%, 10% e 20% (em peso) dos dois vidros bioativos. As micropartículas bioativas foram acrescentadas na porção hidrofóbica (*bond*) dos materiais. Além disso, um adesivo experimental sem partículas (controle experimental) e o sistema adesivo Clearfil SE Bond (controle comercial) também foram utilizados. Amostras do adesivo (*bond*) foram confeccionadas e os materiais foram avaliados quanto ao grau de conversão, resistência coesiva, amolecimento em solvente, radiopacidade, sorção e solubilidade, mudança de pH e liberação iônica. Quarenta e oito terceiros molares humanos foram selecionados, preparados e restaurados com os sistemas adesivos para avaliação da resistência de união à microtração e nanoinfiltração após dois períodos de armazenamento: 24 horas e um ano. A bioatividade foi avaliada após imersão de amostras dos adesivos por 28 dias em solução de fluido corporal simulado (SBF). A superfície dessas amostras foi analisada através de Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR/ATR) e Difração de Raios-X (DRX) para identificação e caracterização de precipitados bioativos. Os dados foram submetidos aos testes ANOVA, pós-teste de Holm-Sidak ($\alpha=0,05$) e estatística descritiva.

Resultados: Após a moagem, as micropartículas de 45S5 e NbG apresentaram tamanho médio aproximado de 4 e 3,3 μm , respectivamente. A adição dos dois vidros bioativos não influenciou negativamente o grau de conversão, resistência coesiva e o amolecimento em solvente dos adesivos. O sistema adesivo contendo 20% de NbG apresentou os maiores valores de radiopacidade dentre os materiais avaliados. A incorporação de 45S5 aumentou significativamente os

valores de sorção e solubilidade dos sistemas adesivos, alcalinizou o pH das soluções e permitiu a liberação de grandes quantidades de íons cálcio, em todas as concentrações. Por outro lado, a inclusão de NbG não influenciou nos valores de sorção e solubilidade dos adesivos e pH das soluções, com a liberação de pequenas quantidades de íons fósforo, independentemente da concentração. Após um ano de armazenamento, os adesivos contendo vidros bioativos foram capazes de manter os valores de resistência de união e nanoinfiltração estáveis, nas três concentrações avaliadas. Após 28 dias de imersão em SBF, os grupos contendo 45SS, em todas as concentrações, foram capazes de apresentar bioatividade através da precipitação de hidroxiapatita e carbonato de cálcio. Não foi possível observar deposição de precipitados minerais nos grupos contendo NbG.

Conclusão: A incorporação de micropartículas de vidros bioativos em sistemas adesivos autocondicionantes é capaz de promover a criação de interfaces mais resistentes à degradação. Além disso, a adição de vidro 45S5 nesses materiais adesivos foi capaz de promover bioatividade através da formação de uma camada superficial de hidroxiapatita.

Palavras-chave: Materiais Dentários; Adesivos Dentinários; Dentina; Materiais biocompatíveis.

ABSTRACT

Objective: To develop and evaluate physicochemical, mechanical and biological properties of experimental self-etching adhesive systems containing microparticles of different bioactive glasses (45S5 and a niobium-based experimental glass - NbG).

Materials and methods: The 45S5 and NbG glasses were dry milled (in a planetary mill) to obtain microparticles, approximately 5 μm in size. Two-step experimental self-etching adhesive systems containing 5%, 10% and 20% (% weight) of the two bioactive glasses were developed. The microparticles were added to the hydrophobic (bond) portion of the materials. In addition, a particle-free experimental adhesive (experimental control) and Clearfil SE Bond adhesive system (commercial control) were also used. Bond samples were made and materials were evaluated for degree of conversion, tensile strength, solvent softening, radiopacity, water sorption and solubility, pH change and ionic release. Forty-eight human third molars were selected, prepared and restored with the adhesive systems for microtensile bond strength and nanoinfiltration evaluation after two storage periods: 24 hours and one year. Bioactivity was evaluated after immersion of bond samples for 28 days in simulated body fluid solution (SBF). The surface of these samples was analyzed by Scanning Electron Microscope (SEM), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR / ATR) and X-ray Diffraction (XRD) for identification and characterization of bioactive precipitates. Data were submitted to ANOVA, Holm-Sidak post-test ($\alpha = 0.05$) and descriptive statistics.

Results: After the dry milling process, the 45S5 and NbG microparticles had an approximate average size of 4 and 3.3 μm , respectively. The addition of the two bioactive glasses did not negatively influenced the degree of conversion, tensile strength and solvent softening of the adhesives. The adhesive system containing NbG 20% presented the highest radiopacity values among all materials. The incorporation of 45S5 significantly increased the water sorption and solubility values of the adhesive systems, alkalized the solutions and allowed the release of large amounts of calcium ions at all concentrations. On the other hand, the NbG did not influenced the water sorption and solubility values of the adhesives

and pH of the solutions, with the release of small amounts of phosphorus ions, regardless of the concentration. After one year of storage, the adhesives containing bioactive glasses were able to keep stable values of bond strength and nanoinfiltration at all concentrations. After 28 days of SBF immersion, groups containing 45SS were able to present bioactivity through precipitation of hydroxyapatite and calcium carbonate. No deposition of mineral precipitates could be observed in groups containing NbG.

Conclusion: The incorporation of bioactive glass microparticles in self-etching adhesive systems is able to promote the creation of more degradation-resistant interfaces. The addition of 45S5 glass in these adhesive systems was able to promote bioactivity through the formation of a hydroxyapatite layer in the surface.

Keywords: Dental Materials; Dentin adhesives; Dentin; Biocompatible materials.

SUMÁRIO

RESUMO	IX
ABSTRACT	XI
1. REFERENCIAL TEÓRICO	1
2. CAPÍTULO I.....	8
RESUMO.....	8
1. INTRODUÇÃO	9
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
<u>2.1 Preparo dos vidros bioativos</u>	<u>12</u>
<u>2.2 Formulação dos sistemas adesivos experimentais.....</u>	<u>12</u>
<u>2.3 Grau de conversão</u>	<u>13</u>
<u>2.4 Resistência coesiva</u>	<u>14</u>
<u>2.5 Microdureza e amolecimento em solvente.....</u>	<u>14</u>
<u>2.6 Radiopacidade.....</u>	<u>14</u>
<u>2.7 Sorção e solubilidade, análise de pH e liberação iônica.....</u>	<u>15</u>
<u>2.8 Resistência de união à microtração (RU).....</u>	<u>16</u>
<u>2.9 Nanoinfiltração.....</u>	<u>17</u>
<u>2.10 Bioatividade (MEV, FTIR-ATR e DRX).....</u>	<u>18</u>
<u>2.11 Análise estatística</u>	<u>18</u>
3. RESULTADOS.....	20
<u>3.1 Análise granulométrica.....</u>	<u>20</u>
<u>3.2 Grau de conversão</u>	<u>20</u>
<u>3.3 Resistência Coesiva.....</u>	<u>21</u>
<u>3.4 Microdureza e amolecimento em solvente.....</u>	<u>21</u>
<u>3.5 Radiopacidade.....</u>	<u>22</u>
<u>3.6 Sorção e solubilidade, análise de pH e liberação iônica.....</u>	<u>22</u>
<u>3.7 Resistência de união à microtração</u>	<u>24</u>
<u>3.8 Nanoinfiltração.....</u>	<u>31</u>
<u>3.9 Bioatividade.....</u>	<u>35</u>
4. DISCUSSÃO	44
5. CONCLUSÃO.....	51
REFERÊNCIAS	52
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	58
REFERÊNCIAS.....	59

1. REFERENCIAL TEÓRICO

Os sistemas adesivos são materiais que foram desenvolvidos para promover a união entre materiais restauradores e os substratos dentais. Frequentemente, estes sistemas são compostos por elementos como: monômeros, iniciadores, estabilizadores, solventes e partículas inorgânicas (VAN LANDUYT et al., 2007).

Segundo Bedran-Russo *et al.* (2017), esses materiais resinosos usualmente são classificados em gerações, que refletem muito mais as mudanças nas composições e forma de aplicação do que os conceitos de adesão empregados. Utilizando-se então desses conceitos, é possível classificar todos os sistemas adesivos em dois grandes grupos: (I) aqueles que necessitam da remoção completa da *smear layer* e desmineralização parcial dos tecidos dentários, conhecidos como adesivos convencionais; e (II) os materiais capazes de dissolver superficialmente a *smear layer* e incorporá-la na interface adesiva, conhecidos como adesivos autocondicionantes.

Adicionalmente, esses dois grupos podem ser subdivididos, levando-se em consideração a quantidade de etapas necessárias para a aplicação do material. Dessa forma, estão disponíveis produtos com estratégias variadas de aplicação: desde adesivos convencionais que necessitam de condicionamento ácido, aplicação de *primer* e adesivo (três passos), até materiais que podem ser aplicados diretamente ao substrato dental (autocondicionantes de passo único). Mais recentemente, surgiram os sistemas adesivos universais, que podem ser utilizados tanto como materiais convencionais quanto autocondicionantes (CHEN et al., 2015).

O mecanismo de adesão dos sistemas adesivos convencionais aos tecidos dentais se baseia na retenção micromecânica. Este processo ocorre através da desmineralização superficial, causada pela aplicação do ácido fosfórico (condicionamento ácido), com posterior substituição da camada removida por monômeros resinosos (PASHLEY et al., 2011).

Na dentina, o condicionamento ácido leva à exposição das fibras colágenas, que desprotegidas são mais suscetíveis à degradação (PASHLEY et al., 1993). Diante disso, os materiais autocondicionantes mais recentes introduziram a utilização de monômeros ácidos que são capazes de infiltrar a

smear layer e formar ligações com o cálcio da hidroxiapatita, gerando um mecanismo de adesão adicional (adesão iônica) e limitando a exposição da rede de colágeno (NAKAYAMA et al., 2004).

Apesar dos avanços no desenvolvimento dos sistemas adesivos, todos os materiais poliméricos estão suscetíveis à degradação (ABDALLA; FEILZER, 2008; SPENCER et al., 2010). Diversas razões podem levar ao insucesso o tratamento restaurador adesivo. No entanto, grande parte deles parece estar ligado às falhas interfaciais, que tornam essas interfaces suscetíveis à ação de bactérias e enzimas (BOURBIA et al., 2013). Inúmeros estudos têm demonstrado que o desenvolvimento de cáries secundárias, associada às fraturas e outras falhas dos materiais adesivos, são o principal motivo para substituição de restaurações (ELTAHLAH et al., 2018; PALOTIE; VEHKALAHTI, 2012).

A hidrólise pode ser considerada como o principal fator responsável pela degradação polimérica na camada híbrida, o que contribui para a diminuição da resistência de união ao longo do tempo (FRASSETTO et al., 2016). Esse processo ocorre inicialmente através da penetração de água por espaços infiltrados com monômeros hidrofílicos/pobrememente polimerizados (SPENCER; WANG, 2002). Durante exposições prolongadas a um meio aquoso, os grupos fosfatos, ésteres e hidroxilas dos monômeros podem ser hidrolisadas pela ação de enzimas ou elementos químicos (FERRACANE, 2006). Como consequência, partes da rede de fibras colágenas que antes estavam recobertas pelas resinas são expostas, tornando essas fibrilas suscetíveis a degradação e agravando a deterioração da interface (PASHLEY et al., 2004).

Dessa forma, o mecanismo de degradação das fibras colágenas também exerce um papel fundamental na falha das interfaces adesivas. Durante os procedimentos restauradores, a completa infiltração dos monômeros na trama de colágeno dificilmente é alcançada, por conta das irregularidades da superfície e da forma de aplicação dos adesivos (FRASSETTO et al., 2016). Fibras colágenas que não estão completamente protegidas, sejam por falha durante a adesão ou hidrólise polimérica posterior, ficam expostas na camada híbrida (HASHIMOTO et al., 2003). A desmineralização da dentina causada pela hibridização pode ativar a ação de enzimas, as metaloproteinases da matriz (MMPs), que são capazes de degradar componentes da matriz extracelular (PASHLEY et al., 2004), como o colágeno.

Diante dessa problemática, foram desenvolvidas várias estratégias que visam preservar a integridade da camada híbrida, através da obtenção de interfaces adesivas mais duradouras. A técnica *ethanol wet-bonding*, por exemplo, propõe a saturação da dentina com soluções de etanol em diferentes concentrações, a fim de promover a completa infiltração de monômeros na rede de fibras colágenas (PASHLEY et al., 2007).

Dessa forma, em teoria, o recobrimento total das fibrilas por dimetacrilatos hidrofóbicos propiciariam a criação de interfaces mais resistentes à degradação (TAY et al., 2007). No entanto, estudos mais recentes têm questionado a utilização dessa técnica, seja pelo potencial danoso do etanol à polpa ou pela contaminação constante de água causada pela pressão intrapulpar *in vivo* (AYAR, 2016).

Outra abordagem para preservação da camada adesiva diz respeito ao uso de substâncias inibidoras de MMPs. Dentre elas, a clorexidina é a mais utilizada, pode ser um eficaz agente antibacteriano capaz de inibir a atividade das MMP-2, 8 e 9 presentes na dentina (GENDRON et al., 1999). Zheng *et al.* (2017) demonstraram que o pré-tratamento da dentina com estas substâncias foi capaz de melhorar a resistência de união e formar camadas híbridas mais uniformes. Frassetto *et al.* (2016) também destacam o emprego de compostos de amônio quaternário, doxiciclina e inibidores sintéticos como substâncias com efeito inibidor.

O desenvolvimento de materiais adesivos com propriedades antibacterianas também tem sido apontado como uma alternativa para a obtenção de interfaces adesivas mais longevas. Fujimura *et al.* (2018) destacam o uso do brometo de metacrilóiloxidodecilmiridínio (MDPB), um monômero com um grupo funcional capaz de destruir membranas celulares bacterianas e inibir a atividade enzimática. Já Li *et al.* (2019) demonstraram que a adição de dimetilaminohexadecil metacrilato (DMAHDM) e partículas de fosfato de cálcio amorfo, um biomaterial, promoveu atividade antibacteriana e aumento da durabilidade interfacial em sistemas adesivos.

Dentre as diferentes propostas para o desenvolvimento de materiais adesivos mais duradouros, destaca-se a utilização de vidros bioativos. Esses materiais são capazes de interagir com os tecidos corporais e induzir a liberação de íons (AL-EESA et al., 2017), formação de precursores da bioatividade

(TAUBÖCK et al., 2014), remineralizar de tecidos duros (BAKRY et al., 2014; BAKRY; ABBASSY, 2019), inibir MMPs (TEZVERGIL-MUTLUAY et al., 2017) e ainda possuir atividade antibacteriana (KIM et al., 2018). Assim, a inclusão de partículas desses biomateriais em sistemas adesivos se mostra vantajosa, pela possibilidade de um único material agir simultaneamente sobre vários mecanismos associados com a degradação das interfaces adesivas.

O primeiro vidro bioativo foi desenvolvido na década de 1960, através da necessidade de desenvolver um material que pudesse interagir com os tecidos vivos e exercer um papel ativo nos processos de reparo do corpo (HENCH, 2006): o 45S5. Por definição, um material é considerado bioativo quando é desenvolvido com a finalidade de induzir atividades biológicas específicas (WILLIAMS, 2008). Dessa forma, um material bioativo utilizado para reparos ósseos, por exemplo, precisa ter a capacidade de aderir ao osso através da formação de uma camada de apatita na sua superfície, quando em contato com o tecido vivo (JONES, 2013).

Segundo Bairo (2018), a bioatividade de um vidro normalmente é medida através da taxa de crescimento da camada de hidroxiapatita (Ha) que se forma na sua superfície, tanto *in vitro* quanto em *in vivo*. De forma resumida, o mecanismo básico através do qual o 45S5 é capaz de nuclear e precipitar hidroxiapatita cristalina é descrito por Hench (1988), sendo dividido em cinco etapas:

- (I) Trocas catiônicas entre o vidro e o meio aquoso, com a liberação de sódio (Na^+) e cálcio (Ca^{2+}) do vidro e hidrogênio (H^+) da solução, levando à formação de ligações de silanol e aumento do pH do meio;
- (II) Formação e liberação de sílica solúvel na interface entre vidro e fluido;
- (III) Condensação e polimerização da sílica, formando um gel que é capaz de absorver íons e iniciar o processo de precipitação de Ha;
- (IV) Difusão de íons cálcio (Ca^{2+}) e fosfato (PO_4^{3-}) através do gel de sílica e da solução, formando um filme de fosfato de cálcio amorfo;
- (V) Cristalização do filme de fosfato de cálcio e formação da hidroxiapatita.

Vidros, no geral, são materiais que permitem várias alterações na sua composição, o que possibilita um grande controle sobre suas propriedades. Por conta disso, surgiram inúmeras novas composições de biovidros desde a formulação do 45S5. A partir da experimentação e uso de diferentes óxidos

formadores, em substituição à sílica, que é o principal componente do 45S5 (vidro silicato), surgiram os vidros fosfatos e boratos (BAINO, 2018).

Os vidros fosfatos bioativos surgiram a partir da tentativa de se criar materiais que pudessem ser completamente reabsorvidos pelo corpo na mesma taxa de formação óssea, para aplicações como material de preenchimento ou em próteses reabsorvíveis (KNOWLES, 2003). No entanto, esses vidros são naturalmente instáveis por conta da facilidade de ruptura da rede de fosfatos na presença de soluções. Dessa forma, óxidos metálicos (como titânio, cobre, ferro, zinco, prata e gálio) são usualmente utilizados como modificadores da composição, gerando assim vidros fosfatos com propriedades bastante distintas (BAINO, 2018). Entre estes, podemos destacar a utilização do nióbio (Nb).

Vidros fosfatos contendo Nb têm sido desenvolvidos e aplicados em várias áreas, como: materiais neutralizadores de lixo tóxico, em lasers, fibras de vidro, lentes, eletrodos e na agricultura (SENE; MARTINELLI; GOMES, 2004). Dessa forma, a adição de Nb em composições vítreas objetiva desenvolver vidros com melhores propriedades óticas e físico-químicas (LOPES et al., 2014). Já em vidros bioativos, estudos demonstraram a inclusão desse metal em vidros fosfatos confere maior estabilidade química e melhores propriedades mecânicas (LOPES et al., 2014; SENE; MARTINELLI; GOMES, 2004). Além disso, outros trabalhos destacaram a capacidade do Nb de induzir a formação de precipitados bioativos de forma semelhante aos vidros silicatos (GODLEY; STAROSVETSKY; GOTMAN, 2004; MIYAZAKI et al., 2001), apresentando-se como uma alternativa viável ao vidro 45S5.

Apesar do grande potencial de utilização dos vidros bioativos, por muitos anos esses materiais estiveram restritos a aplicações médicas (HENCH, 2006; JONES, 2013). Atualmente, estes biomateriais estão presentes em inúmeros materiais de diversos campos da Odontologia: pasta para o tratamento da hipersensibilidade dentinária (GILLAM et al., 2002), cobertura de parafusos para acelerar o processo de osseointegração em implantes dentários (ALTOMARE et al., 2011), inclusão em cimento endodôntico para vedar a interface dentina radicular/cimento (LEITUNE et al., 2013), desenvolvimento de guta percha bioativa (CARVALHO et al., 2015), inclusão em materiais ionôméricos para aumentar a liberação de íons Ca/P (VALANEZHAD et al., 2016), no jateamento do substrato desmineralizado (LEAL et al., 2017) e desenvolvimento de sistemas

adesivos para aumentar a longevidade clínica das restaurações (BAUER et al., 2016; CARNEIRO et al., 2016; SAURO et al., 2012).

Diversos estudos apontam a capacidade dos vidros bioativos de produzir interfaces estáveis e induzir atividade bioativa. Tauböck et al. (2014) demonstraram que a funcionalização de adesivos com 20% de nanopartículas de 45S5 foi capaz de exibir bioatividade em soluções tampão fosfato-salino. Profeta *et al.* (2013) desenvolveram adesivos convencionais com 20% de micropartículas bioativas e observaram que esses materiais foram capazes de produzir interfaces com resistência de união estável após 6 meses de armazenamento. Já em um estudo sobre a utilização de adesivos contendo 40% de 45S5, Sauro *et al.* (2012) puderam observar que a presença do vidro foi capaz de remineralizar áreas da dentina desmineralizada durante os procedimentos adesivos. Dessa forma, as evidências apontam que a inclusão de partículas bioativas em materiais adesivos é uma estratégia promissora para a criação de interfaces mais duradouras.

No entanto, ainda não há consenso acerca da utilização de vidros bioativos em sistemas adesivos. Par *et al.* (2018) apontam que as evidências disponíveis são material e teste-dependentes, o que torna a comparação dos resultados inviável, devido a heterogeneidade dos trabalhos. Além disso, a maioria dos estudos se concentram no potencial de remineralização e/ou deposição mineral dos vidros bioativos, com pouco destaque para o impacto da inclusão dessas partículas nas propriedades mecânicas dos materiais onde foram incorporados (FERNANDO et al., 2017).

Um outro fator que pode exercer um papel importante na eficácia dessa estratégia diz respeito à concentração de partículas utilizada. Estudos sobre a incorporação de diferentes concentrações de partículas de carga bioativas em compósitos, demonstraram que maiores concentrações (40%) destes materiais podem ter um efeito negativo nas propriedades mecânicas (MAROVIC et al., 2014; PAR et al., 2018).

Até o momento, não há evidências suficientes acerca do impacto da adição de partículas de vidros bioativos em sistemas adesivos autocondicionantes, especialmente no que diz respeito à variação sistemática da concentração desses biomateriais nas propriedades físico-químicas, mecânicas e biológicas destes materiais resinosos.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver sistemas adesivos autocondicionantes experimentais, contendo dois tipos de vidros bioativos em diferentes concentrações, e avaliar o impacto da incorporação destas partículas em diversas propriedades desses materiais.

2. CAPÍTULO I

Impacto da incorporação de diferentes vidros bioativos sobre as propriedades físico-químicas, mecânicas e biológicas de sistemas adesivos autocondicionantes

RESUMO

Objetivo: desenvolver e avaliar propriedades físico-químicas, mecânicas e biológicas de sistemas adesivos autocondicionantes experimentais contendo micropartículas de dois vidros bioativos (45S5 e um vidro experimental à base de nióbio - NbG).

Materiais e métodos: Sistemas adesivos autocondicionantes de dois passos contendo 5%, 10% e 20% (em peso) dos vidros bioativos foram desenvolvidos. As micropartículas bioativas foram incorporadas ao componente hidrofóbico (*bond*) dos materiais. Um adesivo experimental sem partículas e um comercial (Clearfil SE Bond) foram utilizados como controles. Os materiais foram avaliados quanto ao grau de conversão (GC), resistência coesiva (RC), amolecimento em solvente (AS), radiopacidade (RP), sorção (WS) e solubilidade (SL), mudança de pH, liberação iônica, resistência de união à microtração (RU), nanoinfiltração (NI) e bioatividade. Os dados foram submetidos aos testes ANOVA e pós-teste de Holm-Sidak ($\alpha=0,05$).

Resultados: A adição dos dois vidros bioativos não influenciou negativamente o GC, RC, AS. O sistema adesivo contendo 20% de NbG apresentou os maiores valores de RP. A incorporação de 45S5 aumentou os valores de WS e SL, elevou o pH das soluções e permitiu a liberação de grandes quantidades de íons cálcio. Após um ano de armazenamento, os adesivos contendo vidros bioativos foram capazes de manter os valores de RU e NI estáveis, independente da concentração. Após 28 dias de imersão em SBF, os grupos contendo 45SS, em todas as concentrações, foram capazes de precipitar hidroxiapatita e carbonato de cálcio.

Conclusão: A incorporação de micropartículas de vidros bioativos em sistemas adesivos autocondicionantes é capaz de promover a criação de interfaces mais resistentes à degradação. Além disso, a adição de vidro 45S5 nesses materiais adesivos foi capaz de induzir a formação de hidroxiapatita.

Palavras-chave: Adesivos Dentinários; Materiais Biocompatíveis; Resistência à Tração.

1. Introdução

Desde a sua concepção, os sistemas adesivos passaram por grandes evoluções, com o desenvolvimento de novos produtos e estratégias que visaram melhorar seu desempenho [1]. Os sistemas adesivos autocondicionantes são capazes de simultaneamente desmineralizar e infiltrar a rede de fibras colágenas expostas [2]. Por esse motivo, estes materiais geram interfaces que podem se degradar mais lentamente que aquelas criadas por adesivos convencionais [3,4]. No entanto, a longo prazo todos os sistemas adesivos estão sujeitos a desafios significativos relacionados à longevidade interfacial: a hidrólise polimérica e a degradação da camada híbrida, que podem culminar no desenvolvimento de cáries secundárias e consequente falha das restaurações [5].

Diante disso, diferentes estratégias com o objetivo de preservar a integridade da camada híbrida a longo prazo, têm sido reportadas na literatura. Modificações na técnica adesiva através do emprego do *ethanol-wet bonding* [6], o tratamento do substrato dentinário com o *cross-linking* do colágeno [7] e o uso inibidores de MMPs [8], tem alcançado variados graus de sucesso. Por outro lado, tem sido propostas modificações na composição dos sistemas adesivos, como a adição de partículas funcionalizadas [9], incorporação de partículas de carga [10,11] e o desenvolvimento de monômeros com propriedades antibacterianas [12]. Dentre estas abordagens, podemos destacar a incorporação de partículas de vidros bioativos em sistemas adesivos [13,14].

Os vidros bioativos são materiais caracterizados pela capacidade de interagir com os tecidos corporais e induzir a liberação de íons [15], formação de precipitados à base de cálcio e fosfato (bioatividade) [16], remineralização de tecidos duros [17,18], inibição de MMPs [19] e possuir atividade antibacteriana [20]. Assim, a inclusão de partículas desses biomateriais em sistemas adesivos se mostra vantajosa, pela possibilidade de um único material bioativo agir simultaneamente sobre vários mecanismos associados com a degradação interfacial.

Diferentes composições de vidros bioativos têm sido reportadas na literatura [21], sendo o Bioglass 45S5 o mais utilizado na Odontologia [22]. O 45S5 é um vidro altamente reativo [22], com excelentes propriedades bioativas [16]. No entanto, este vidro silicato apresenta menor estabilidade química [23], o

que pode influenciar negativamente nas propriedades mecânicas de materiais resinosos [24]. Por esse motivo, novas composições que buscaram substituir a sílica, foram desenvolvidas. Nesta categoria, se destacam os vidros bioativos fosfatos à base de nióbio (Nb) [25,26]. O Nb é um metal de transição, cuja presença em vidros fosfatos confere maior estabilidade química e melhores propriedades mecânicas [27,28]. Além disso, estudos demonstraram a capacidade do Nb de induzir a formação de precipitados bioativos de forma semelhante aos vidros à base de sílica [29,30], apresentando-se como uma alternativa viável ao vidro 45S5.

Embora a inclusão de vidros bioativos em sistemas adesivos seja uma estratégia promissora, com vários estudos apontando a capacidade desses materiais de produzir interfaces estáveis e induzir atividade bioativa [31–35], algumas controvérsias permanecem. Par *et al.* [24] apontam que as evidências disponíveis na literatura são material e teste-dependentes, o que torna a comparação dos resultados inviável, devido a heterogeneidade dos trabalhos. Além disso, a maioria dos estudos se concentram no potencial de remineralização e/ou deposição mineral dos vidros bioativos, com pouco destaque para o impacto da inclusão dessas partículas nas propriedades mecânicas dos materiais onde foram incorporados [36].

Um outro fator que pode exercer um papel importante na eficácia dessa estratégia diz respeito à concentração de partículas utilizada. Estudos sobre a incorporação de diferentes concentrações de partículas de carga bioativas em compósitos, demonstraram que maiores concentrações (40%) destes materiais podem ter um efeito negativo nas propriedades mecânicas [24,37]. Até o momento, não há evidências suficientes acerca do impacto da adição de partículas de vidros bioativos em sistemas adesivos autocondicionantes, especialmente no diz respeito à variação sistemática da concentração desses biomateriais nas propriedades físico-químicas, mecânicas e biológicas destes materiais resinosos.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver sistemas adesivos autocondicionantes experimentais, contendo dois tipos de vidros bioativos em diferentes concentrações, e avaliar o impacto da incorporação destas partículas em diversas propriedades desses materiais.

A hipótese nula testada foi que a adição de partículas bioativas, em diferentes concentrações, não tem efeito nas propriedades físico-químicas, mecânicas e biológicas de sistemas adesivos autocondicionantes.

2. Materiais e Métodos

2.1 Preparo dos vidros bioativos

Dois vidros bioativos foram utilizados: um vidro comercial (45S5 Syc, OSspray Ltd, Londres, Reino Unido) e um vidro experimental à base de niobofosfato (NbG). A composição e forma de síntese detalhadas do NbG foram descritas em um estudo prévio [13]. Antes da preparação dos sistemas adesivos, os vidros foram moídos em um moinho do tipo planetário (Pulverisette 5, Fritsch GmbH, Idar-Oberstein, Alemanha). Os materiais foram inseridos em jarros cerâmicos com esferas de carbeto de tungstênio (5 mm) e submetidos ao processo de moagem a seco. O pó resultante foi armazenado em tubos Falcon até o momento da preparação dos adesivos.

Em seguida, amostras de cada vidro foram submetidas a um analisador de tamanho de partículas (Mastersizer 2000, Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido) para determinação da granulometria dos materiais. Adicionalmente, imagens representativas das amostras de cada vidro foram obtidas em um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) (TM3030, Hitachi, Tóquio, Japão).

2.2 Formulação dos sistemas adesivos experimentais

Sistemas adesivos autocondicionantes experimentais de dois passos foram desenvolvidos para a incorporação dos vidros bioativos. Diferentes concentrações (5, 10 e 20% em peso) de partículas não silanizadas dos dois vidros bioativos (45S5 e NbG) foram adicionados à porção hidrofóbica (*bond*) dos materiais. Um *primer* ácido de mesma composição foi utilizado para todos os adesivos.

Os sistemas adesivos foram preparados através da mistura de um *blend* de monômeros com o auxílio de um agitador magnético em ambiente com temperatura e umidade controlada. Após a incorporação dos vidros bioativos, os materiais foram centrifugados (SpeedMixer, FlackTek, Carolina do Sul, EUA) para homogeneização completa dos materiais. Um adesivo experimental sem partículas (controle experimental) também foi formulado. O sistema adesivo Clearfil SE Bond (Kuraray, Okayama, Japão) foi definido como controle comercial para esse estudo (Tabela 1).

Tabela 1 - Composição e o modo de aplicação dos materiais testados.

Adesivo	Composição	Modo de aplicação
Clearfil SE Bond (LOT 3M0293) (LOT 3G0469)	Primer: HEMA, 10-MDP, dimetacrilato alifático hidrofóbico, CQ, N.N-dietanol-p-toluidina, água e aceleradores. Bond: Bis-GMA, HEMA, 10-MDP, dimetacrilato alifático hidrofóbico, sílica coloidal, CQ, iniciadores e aceleradores.	
Controle	Primer: GDMA-P, UDMA, HEMA, TEGDMA, etanol, água Bond: UDMA, TEGDMA, GDMA, Bis-EMA, Bis-GMA, DMAEMA, CQ.	1. Limpeza do substrato 2. Secagem 3. Aplicação do primer (ativa) por 20 segundos
45S5 5% 45S5 10% 45S5 20%	Primer: GDMA-P, UDMA, HEMA, TEGDMA, etanol, água Bond: UDMA, TEGDMA, GDMA, Bis-EMA, Bis-GMA, DMAEMA, CQ, vidro bioativo 45S5 (concentrações de 5%, 10% e 20%).	4. Jato de ar 5. Aplicação do bond 6. Jato de ar 7. Fotopolimerização por 10 segundos
NbG 5% NbG 10% NbG 20%	Primer: GDMA-P, UDMA, HEMA, TEGDMA, etanol, água Bond: UDMA, TEGDMA, GDMA, Bis-EMA, Bis-GMA, DMAEMA, CQ, vidro bioativo NbG (concentrações de 5%, 10% e 20%).	

10-MDP: 10-metacrilóiloxidecil di-hidrogeniofosfato; Bis-EMA: bisfenol glicidil dimetacrilato etoxilado; Bis-GMA: bisfenol-A glicidil metacrilato; CQ: canforoquinona; DMAEMA: 2-dimetilaminoetil dimetacrilato; GDMA: glicerol dimetacrilato; GDMA-P: 1,3-dimetacrilato de glicerol fosfato; HEMA: hidroxietilmetacrilato; TEGDMA: tri etileno glicol dimetacrilato; UDMA: dimetacrilato de uretano.

2.3 Grau de conversão

O grau de conversão foi analisado por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier/refletância total atenuada (FTIR/ATR) (IRTracer-100, Shimadzu, Quioto, Japão). Uma gota de cada adesivo (*bond*) não polimerizado foi posicionada na superfície do equipamento e o espectro FTIR foi registrado. Em seguida, o material foi polimerizado por 10 segundos a 1200 mW/cm² (Radii-cal, SDi, Victoria, Austrália) e um novo espectro foi obtido com 40 varreduras e resolução de 4 cm⁻¹. A razão entre as bandas de absorção referentes às duplas ligações de carbono alifáticas (1638 cm⁻¹) e aromáticas (1608 cm⁻¹) dos sistemas adesivos foi utilizada para cálculo do grau de conversão [9]. Seis espécimes foram testados para cada grupo (n=6).

2.4 Resistência coesiva

Dez espécimes em formato de ampulheta (10 mm de comprimento, 2 mm de largura e 1 mm de espessura) com área de seção de transversal de 1 mm² foram confeccionados para cada adesivo (*bond*). Os materiais foram inseridos em uma matriz polimérica, recobertos com uma tira de poliéster e fotopolimerizados por 60 s (1200 mW/cm² - Radium-cal, SDi, Victoria, Austrália). Em seguida, foram armazenados em estufa por 24 h a 37 °C e submetidos ao teste de resistência coesiva em uma máquina de ensaios universal (Instron 3342, Massachusetts, EUA) à velocidade de 1 mm/min até a ruptura do espécime [38]. Os valores de carga, em Newtons (N), foram convertidos em Megapascal (MPa).

2.5 Microdureza e amolecimento em solvente

Dez discos (5 mm de diâmetro e 1 mm de espessura) de cada adesivo (*bond*) foram confeccionados utilizando uma matriz metálica. Os moldes foram preenchidos com os materiais, recobertos com uma tira de poliéster para remover o excesso de adesivo e fotopolimerizados por 60 s (1200 mW/cm² - Radium-cal, SDi, Victoria, Austrália). Os discos foram lixados com lixas de carvão de silício de granulações #600, #1200 e #2000 sob irrigação por 30 s.

Em seguida, os espécimes foram armazenados a seco por 24 h e submetidos ao teste inicial de microdureza Knoop (KHN_i), com carga de 10 gf por 15 segundos [39]. Três endentações foram realizadas em cada espécime (HMV-2, Shimadzu, Quioto, Japão). Em seguida, as amostras foram imersas em etanol a 100% e armazenados em estufa por 24 h a 37 °C. A microdureza final (KHN_f) foi obtida da mesma forma que a inicial. Os valores de amolecimento em solvente foram processados através do cálculo da porcentagem de diminuição de microdureza entre o KHN_i e KHN_f [39].

2.6 Radiopacidade

Cinco espécimes de cada grupo foram confeccionados da mesma forma descrita no item 2.5. Espécimes de esmalte e dentina com 1 mm de espessura (obtidos a partir de seções longitudinais de molares humanos hígidos) e uma escala de alumínio com degraus de 1 mm até 16 mm foram usados como referência para análise da radiopacidade.

Foram feitas cinco tomadas radiográficas contendo os espécimes experimentais, esmalte/dentina e a escala de alumínio em um sensor digital. Em

seguida, radiografias digitais (70kVp e 7mA) foram realizadas com um tempo de exposição de 0,2 segundos em uma posição padronizada (feixe de raios-X com incidência de 90 graus em relação ao receptor de imagem a 30 cm de distância) e paralelismo entre espécime e sensor digital [13]. As radiografias resultantes foram processadas no *software* ImageJ (NIH, Maryland, EUA) para a determinação dos valores médios de cinza de cada condição avaliada.

2.7 Sorção e solubilidade, análise de pH e liberação iônica

Duas soluções com diferentes valores de pH inicial foram preparadas: uma solução de pH 4 (utilizando ácido clorídrico para o ajuste) e uma solução de pH 7 (utilizando o hidróxido de sódio para o ajuste). Dez espécimes (discos) de cada grupo foram confeccionados da mesma forma descrita no item 2.5 (com exceção do lixamento da superfície) e divididos igualmente (n=5) entre as duas soluções.

Após a confecção das amostras, estas foram imediatamente armazenadas em um dessecador por 10 dias. Em seguida, os espécimes foram pesados a cada 24 horas até a obtenção de uma massa estável inicial (M_1) para o início dos testes de sorção e solubilidade. Para o cálculo do volume (V , em mm^3), o diâmetro e a espessura de cada disco foram mensurados com um paquímetro digital.

Os espécimes foram armazenados em frascos plásticos individuais contendo 5 ml das soluções preparadas (pH 4 ou pH 7) em estufa à 37 °C. Após períodos de armazenamento fixos (24 horas, 7, 14 e 28 dias), as amostras foram removidas das soluções, lavadas e secadas em papel absorvente para a obtenção da massa dos discos (M_2). Em seguida, os materiais foram posicionados em novos frascos com as mesmas quantidades das soluções frescas. Após 28 dias, as amostras foram dessecadas novamente por 30 dias e pesadas diariamente até a obtenção de uma massa estável final (M_3). A sorção (WS) e solubilidade (SL) dos materiais foi determinada através das seguintes equações: $WS = (M_2 - M_3) / V$; $SL = (M_1 - M_3) / V$ [39].

Após a determinação da massa das amostras e substituição dos frascos e soluções em cada período de avaliação, as soluções em que os espécimes estavam armazenados anteriormente foram utilizadas para a mensuração do pH e análise da liberação de íons. A mensuração do pH foi realizada com um

eletrodo posicionado diretamente nos frascos contendo as soluções (QM-A338, Quimis, São Paulo, Brasil). Em seguida, estas foram congeladas até serem analisadas em espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-AES, ICP-9800, Shimadzu, Quioto, Japão) para quantificação da liberação de íons de cálcio (Ca^{2+}) e fósforo (PO_4^{3-}).

2.8 Resistência de união à microtração (RU)

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa local (CAAE 33312914.7.0000.5087) e 48 molares humanos foram selecionados (n=6). Os dentes foram armazenados em solução de timol a 0,1% para desinfecção e posteriormente em água destilada até o momento de sua utilização. Superfícies dentinárias planas foram criadas após a remoção do esmalte oclusal com um disco diamantado em baixa velocidade montado em uma máquina de corte (Isomet 1000 – Buheler, Illinois, EUA) sob irrigação. A dentina exposta e livre de esmalte foi lixada com lixa de carbetto de silício (#600) por 60 segundos para padronização da camada de *smear layer*. Os dentes foram alocados randomicamente em oito condições experimentais, de acordo com os adesivos utilizados.

Para os procedimentos adesivos, foi feita a limpeza e secagem da superfície dentinária para a aplicação do primer autocondicionante de forma ativa por 20 segundos, com posterior uso de um leve jato de ar. Em seguida, foi realizada a aplicação do adesivo (10 s) e fotoativação por 10 s (Radium-cal, SDI, Victoria, Austrália) a 1200 mW/cm². Após a aplicação do adesivo, foram confeccionadas restaurações com resina composta (Filtek Z250XT, 3M/ESPE, Minnesota, EUA) com aproximadamente 4 mm de altura e fotoativadas por 20 s. Os espécimes foram então armazenados em estufa por 24 h a 37 °C em solução tampão Tris.

Para a execução dos ensaios, cada espécime foi fixado com cera pegajosa a um dispositivo da máquina de corte com a interface de união perpendicular a este disco. Foram realizadas duas sequências de cortes longitudinais e perpendiculares entre si para obtenção de corpos de prova (cps) com formato de palitos e com área de seção retangular de aproximadamente 1 mm². O número de palitos perdidos prematuramente durante o preparo dos cps em forma de palitos foi anotado.

Os cps de cada dente foram então divididos de forma aleatória em 2 grupos para serem testados em diferentes tempos: imediatamente após sua confecção e após 1 ano de armazenamento em solução Tris em estufa a 37 °C. Cada cp, em seu respectivo período de análise, foi fixado com cola de cianoacrilato gel em um dispositivo acoplado a uma máquina de ensaios universal (Instron 3342, Cantom, EUA), de maneira que as tensões de tração ocorressem perpendicularmente à interface da união. Os ensaios foram realizados a uma velocidade de 0,5 mm/min até a ruptura do cp e os resultados expressos em MPa.

A análise dos espécimes fraturados foi realizada em estereomicroscópio (40X) e classificada nos seguintes padrões: 1) coesiva em dentina; 2) coesiva em resina composta; 3) adesiva ou 4) mista na interface. Em seguida, dois cps de cada espécime, em cada período de avaliação, foram selecionados para análise da interface de união em MEV (TM3030, Hitachi, Tóquio, Japão).

2.9 Nanoinfiltração

Após a obtenção dos cps para o teste de RU, um palito de cada dente e em cada período de avaliação (n=6 por condição experimental) foi selecionado para análise da nanoinfiltração da interface. Os cps foram imersos em uma solução de nitrato de prata amoniacal (50%) em recipientes opacos por 24 horas. Em seguida, foram lavados em água destilada e imersos em uma solução reveladora (Kodak, Nova Iorque, EUA) por oito horas sob luz fluorescente para redução dos íons de prata ao longo da interface de união e posteriormente lavados para embutimento e polimento [40].

As amostras foram embutidas em dispositivos plásticos e polidas com lixas de diferentes granulações (#600, #1000, #1500 e #2000) em uma politriz universal (Aropol-e, Arotec, São Paulo, Brasil). Em sequência, os espécimes foram desidratados em dessecador por 24 horas e a interface de união foi analisada em MEV (TM3030, Hitachi, Tóquio, Japão) em modo de elétrons retroespalhados com aceleração de voltagem de 15Kv. Três imagens da interface de união (regiões esquerda, centro e direita) com magnificação de 1000x foram obtidas para cada cp. O cálculo da porcentagem de infiltração do

nitrito de prata na interface adesiva foi realizado com o auxílio do *software* ImageJ (NIH, Maryland, EUA).

2.10 Bioatividade (MEV, FTIR-ATR e DRX)

Dois espécimes em formato de disco (10 mm de diâmetro e 1 mm de espessura) foram confeccionados para cada grupo da mesma maneira descrita nos itens anteriores. As amostras foram posicionadas em frascos plásticos individuais contendo 5 ml de solução de fluido corporal simulado (SBF) e armazenados em estufa por 28 dias a 37 °C. Após o período de imersão, estas foram retiradas da solução e desidratadas em dessecador por 24 h.

Imagens de MEV (TM3030, Hitachi, Tóquio, Japão) em ampliações de 1000x e 5000x foram obtidas antes e depois da imersão em SBF para caracterização morfológica dos precipitados depositados na superfície. Posteriormente, espectros de FTIR/ATR foram coletados (IRTracer-100, Shimadzu, Quioto, Japão) para identificação de bandas características de precipitados de cálcio e fosfato [13]. Os espectros foram obtidos em modo de transmitância, com 60 varreduras em resolução de 4 cm⁻¹ e *range* de 400 a 2000 cm⁻¹, utilizando pastilhas de Brometo de potássio (KBr).

Caracterização adicional dos precipitados foi realizada através de medidas de difração de Raios-X em um difratômetro (D8 Advance, Bruker, Alemanha) com radiação Cu-K α (40 kV, 40 mA), detector linear e fenda de 0,6 mm. Todas as medidas foram feitas à 25 °C, com passo angular (2 θ) de 0,02° e intervalo de medida de 4 a 94°.

2.11 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o *software* SigmaPlot (SigmaPlot 13.0, Systat Software Inc., San Jose, CA, USA). Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($\alpha=0,05$) e a distribuição normal dos dados foi confirmada em todas as avaliações. Um poder do teste de 80% foi selecionado para todas as análises.

Os dados de grau de conversão, resistência coesiva, amolecimento em solvente e sorção e solubilidade foram submetidos ao teste de análise de variância para um fator (*one-way* ANOVA) e pós-teste de Holm-Sidak ($\alpha=0,05$). Para o teste de resistência de união à microtração, o dente foi definido como unidade experimental. A média dos palitos de cada dente (em cada período de

avaliação) foi utilizada para fins estatísticos. Os valores de RU para cada grupo foram o resultado da média entre os dentes de cada grupo (n=6). Já para o teste de nanoinfiltração, os palitos foram definidos como unidade experimental e a média dos valores de cada palito utilizada. Os dados de RU e nanoinfiltração foram submetidos ao teste *two-way* ANOVA (sistema adesivo x tempo de armazenamento), com pós-teste de Holm-Sidak ($\alpha=0,05$). Os dados de granulometria, pH, liberação iônica, distribuição de fraturas, radiopacidade e bioatividade foram apresentados de forma descritiva.

3. Resultados

3.1 Análise granulométrica

A moagem dos vidros bioativos foi capaz de produzir micropartículas de tamanhos similares para os dois materiais. A análise granulométrica demonstrou que o tamanho médio das partículas ($d_{0,5}$) foi de 4,0 μm para o 45S5 e de 3,3 μm para o NbG (Figuras 1A e 1C). Imagens representativas em MEV das amostras (Figuras 1B e 1D) apresentaram aspecto visual muito semelhante.

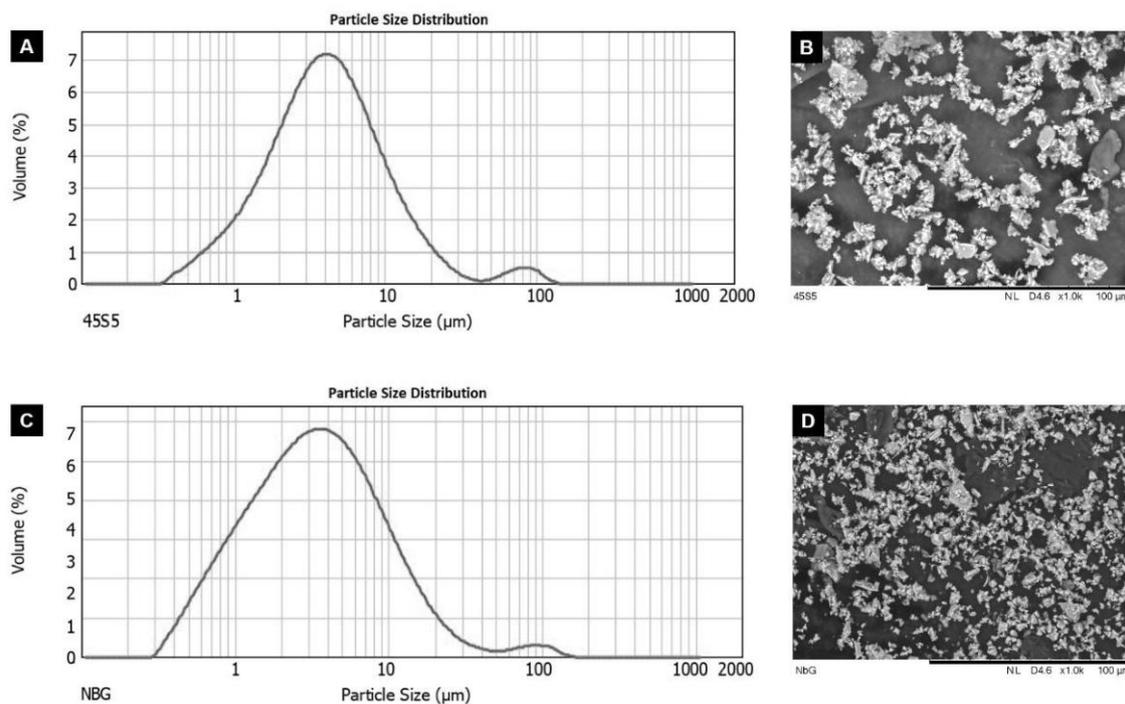


Figura 1. Gráficos de distribuição de tamanho de partículas e imagens em MEV dos vidros bioativos 45S5 (A e B) e NbG (C e D).

3.2 Grau de conversão

Os resultados da análise do grau de conversão dos sistemas adesivos estão apresentados na Tabela 2. A inclusão de partículas dos dois vidros bioativos, em todas as concentrações avaliadas, não reduziu os valores de grau de conversão dos materiais, quando comparados ao controle experimental. O adesivo Clearfil SE Bond apresentou valores similares aos grupos com 45S5 e superiores aos adesivos com NbG e controle experimental ($p < 0,05$).

Tabela 2. Média e desvio-padrão (em porcentagem) dos valores de grau de conversão dos sistemas adesivos avaliados.

Adesivo	Grau de Conversão (%)
Clearfil SE Bond	89,3 (1,9) A
Controle	79,2 (5,7) BC
45S5 5%	80,6 (6,5) ABC
45S5 10%	86,2 (4,0) AB
45S5 20%	80,3 (7,2) ABC
NbG 5%	77,1 (3,5) BC
NbG 10%	75,7 (4,8) C
NbG 20%	79,2 (2,8) BC

* Letras diferentes indicam diferenças estatísticas na mesma coluna ($p < 0,05$).

3.3 Resistência Coesiva

A incorporação dos vidros bioativos não influenciou negativamente na resistência coesiva dos materiais. Para os grupos com maior concentração de vidro (45S5 20% e NbG 20%), os valores médios de resistência coesiva foram superiores ao controle experimental ($p < 0,01$). No entanto, todos os sistemas adesivos experimentais apresentaram valores médios similares ao material comercial Clearfil SE Bond (Tabela 3).

Tabela 3. Média e desvio-padrão dos valores de resistência coesiva, em MPa.

Adesivo	Resistência Coesiva (MPa)
Clearfil SE Bond	37,2 (6,8) AB
Controle	31,6 (6,9) B
45S5 5%	35,9 (5,9) AB
45S5 10%	35,2 (6,1) AB
45S5 20%	41,6 (7,0) A
NbG 5%	36,4 (4,8) AB
NbG 10%	39,5 (7,0) AB
NbG 20%	42,0 (4,8) A

* Letras diferentes indicam diferenças estatísticas na mesma coluna ($p < 0,05$).

3.4 Microdureza e amolecimento em solvente

Os resultados de microdureza Knoop e amolecimento em solvente estão apresentados na Tabela 4. A imersão em etanol reduziu os valores de microdureza para todos os grupos. A inclusão de partículas de vidro (45S5 e NbG) não foi capaz de influenciar na redução da microdureza após imersão em solvente, quando comparados ao controle experimental ($p > 0,05$). O adesivo

Clearfil SE Bond apresentou a maior taxa de redução de microdureza (Δ %) entre os materiais avaliados ($p < 0,001$).

Tabela 4. Média e desvio-padrão da microdureza Knoop inicial (KHN_i), final (KHN_f) e porcentagem de amolecimento em solvente (porcentagem).

Adesivo	Microdureza (KHN)		
	KHN_i	KHN_f	Δ (%)
<i>Clearfil SE Bond</i>	21,8 (1,2)	6,3 (0,6)	70,9 (3,9) A
<i>Controle</i>	14,0 (1,0)	7,2 (0,6)	48,2 (4,6) BC
<i>45S5 5%</i>	15,1 (1,1)	6,9 (0,7)	53,8 (7,9) B
<i>45S5 10%</i>	13,1 (0,5)	7,6 (1,0)	41,6 (9,0) C
<i>45S5 20%</i>	13,5 (1,0)	7,0 (0,6)	47,8 (6,3) BC
<i>NbG 5%</i>	15,8 (1,0)	8,8 (1,0)	44,6 (4,8) C
<i>NbG 10%</i>	15,8 (1,1)	8,7 (0,6)	44,8 (3,6) C
<i>NbG 20%</i>	18,6 (1,7)	9,7 (1,2)	47,8 (5,0) BC

* Letras diferentes indicam diferenças estatísticas na mesma coluna ($p < 0,05$).

3.5 Radiopacidade

Os resultados da análise de radiopacidade estão apresentados na Figura 2. A inclusão de micropartículas de vidros bioativos proporcionou um aumento discreto nos valores de radiopacidade dos sistemas adesivos. O material contendo NbG a 20% apresentou os maiores valores médios de cinza, entre os adesivos avaliados.

3.6 Sorção e solubilidade, análise de pH e liberação iônica

A sorção e solubilidade dos sistemas adesivos, após 28 dias de imersão em soluções com diferentes valores de pH inicial (4 e 7), está representada na Tabela 5. A incorporação de micropartículas de vidro 45S5 aumentou de forma significativa os valores médios de sorção e solubilidade, independentemente do pH inicial da solução, com o adesivo de maior concentração (45S5 20%) apresentando os maiores valores dentre os grupos testados.

Mudanças nos valores de sorção de água, ao longo de 28 dias, dos sistemas adesivos estão representadas nas Figuras 3 e 4. Todos os grupos apresentaram comportamento similar, quando o pH inicial das soluções (4 e 7) foi comparado. Os materiais com maior concentração de vidro 45S5 (20% e 10%, respectivamente) demonstraram os maiores valores de sorção após 7 dias, diferentemente dos demais adesivos testados.

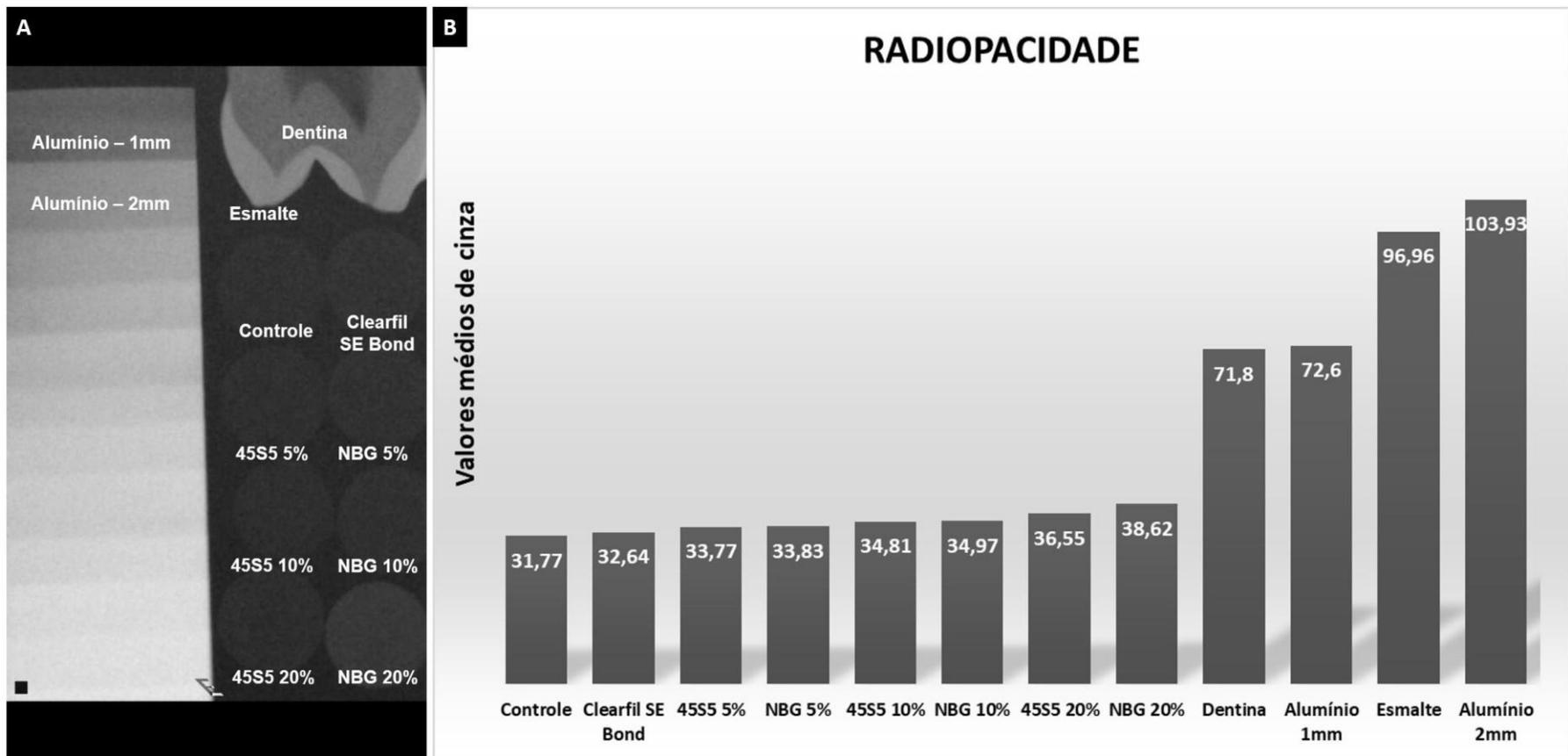


Figura 2. Radiopacidade dos sistemas adesivos avaliados. A: aspecto radiográfico das amostras de adesivos, esmalte, dentina e escala de alumínio. B: Média dos valores de cinza (em ordem crescente) das amostras radiografadas.

Os gráficos com os valores médios da análise de pH das soluções estão representados nas Figuras 5 e 6. Os sistemas adesivos contendo vidro 45S5 (5%, 10% e 20%) foram capazes de alcalinizar as soluções em todos os períodos avaliados, independentemente do pH inicial. Já os adesivos contendo NbG apresentaram comportamento similar aos dois controles (experimental e Clearfil SE Bond), em todas as condições. O adesivo Clearfil SE Bond acidificou o meio após 28 dias em soluções de pH inicial 7 (Figura 6).

Tabela 5. Valores médios de sorção e solubilidade (em mg/mm³) após 28 dias de imersão em soluções com diferentes pH iniciais.

Adesivo	pH 4		pH 7	
	Sorção	Solubilidade	Sorção	Solubilidade
Clearfil SE Bond	77,3 (5,9) C	8,1 (1,1) E	86,2 (3,9) C	13,2 (2,8) D
Controle	54,4 (6,3) D	8,2 (1,6) E	55,0 (6,1) D	8,5 (1,8) D
45S5 5%	92,9 (6,2) B	28,5 (2,8) C	92,9 (4,2) C	29,7 (5,7) C
45S5 10%	113,6 (1,6) A	67,4 (4,4) B	114,2 (4,2) B	66,0 (5,9) B
45S5 20%	113,7 (7,0) A	79,1 (2,3) A	131,7 (8,3) A	95,94 (7,3) A
NbG 5%	57,2 (4,4) D	9,6 (0,6) DE	63,4 (5,1) D	11,85 (2,5) D
NbG 10%	53,8 (2,0) D	12,7 (2,4) D	56,8 (2,5) D	10,7 (2,0) D
NbG 20%	53,9 (3,8) D	13,3 (2,4) D	58,2 (4,0) D	12,4 (4,5) D

* Letras diferentes indicam diferenças estatísticas na mesma coluna ($p < 0,05$).

A análise das soluções em ICP-AES demonstrou que os adesivos contendo vidros bioativos foram capazes de liberar íons cálcio (Figura 7) e fósforo (Figura 8) de forma similar em ambas as soluções (pH inicial 4 e 7). Os sistemas adesivos contendo 45S5 liberaram, após 28 dias, grandes quantidades de Ca²⁺, sendo o material com maior concentração (45S5 20%) aquele que liberou maior volume desses íons. Já os materiais contendo NbG foram capazes de liberar PO₄³⁻ em maior quantidade, quando comparados aos adesivos contendo 45S5. Foram detectadas quantidades insignificantes de liberação iônica para os adesivos Clearfil SE Bond e controle experimental.

3.7 Resistência de união à microtração

Os resultados de resistência de união estão apresentados na Tabela 6. A análise de variância demonstrou uma interação significativa entre os fatores ($p < 0,001$). Após 24 horas de armazenamento, a incorporação de vidros bioativos não diminuiu a RU dos sistemas adesivos, quando comparados ao controle experimental ($p > 0,05$). O adesivo Clearfil SE Bond apresentou os maiores valores de resistência de união entre os adesivos avaliados ($p < 0,01$).

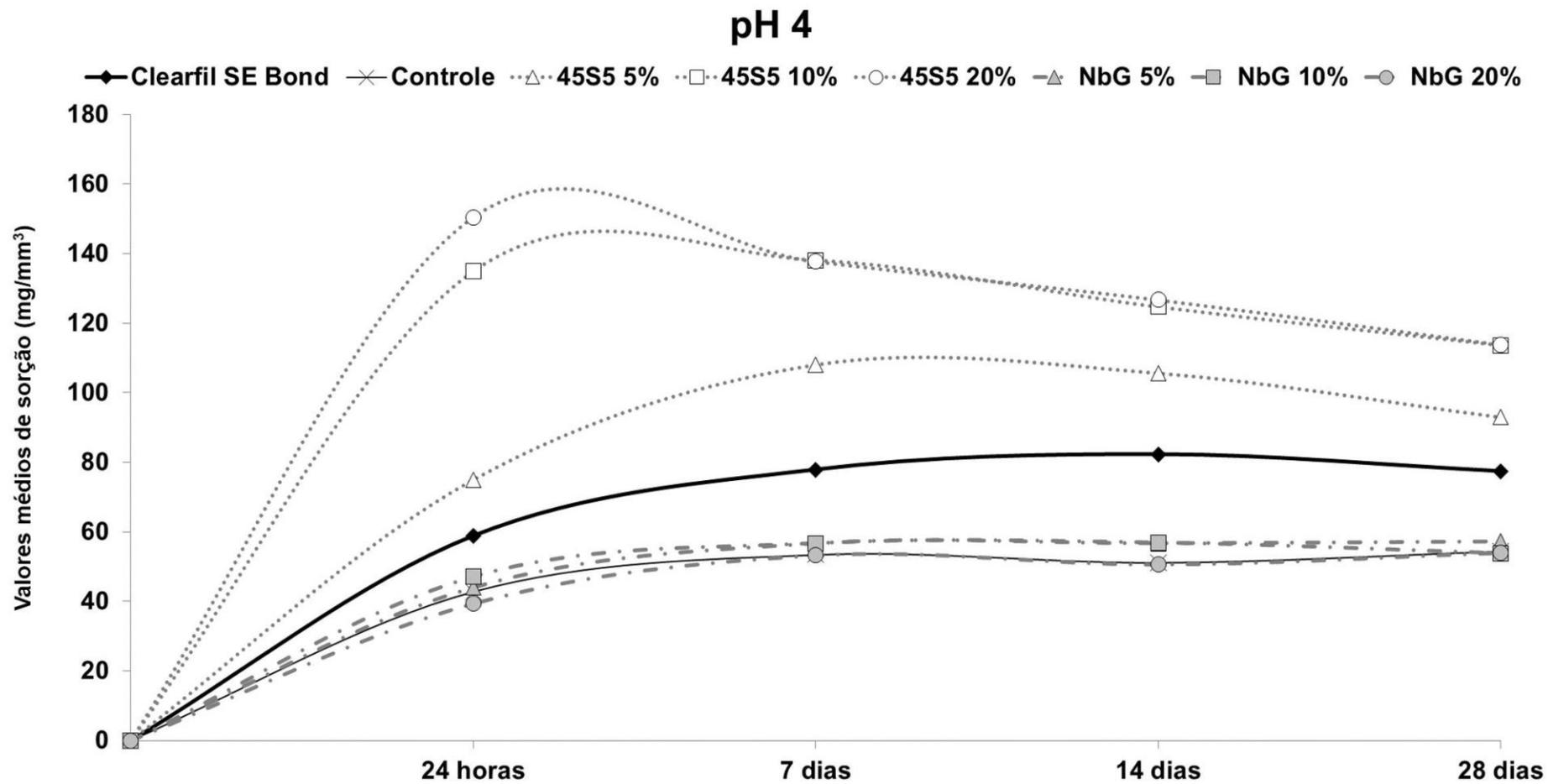


Figura 3. Valores médios de sorção de água (em mg/mm^3), ao longo de 28 dias de avaliação, de amostras dos sistemas adesivos imersos em soluções com pH inicial ácido (pH 4).

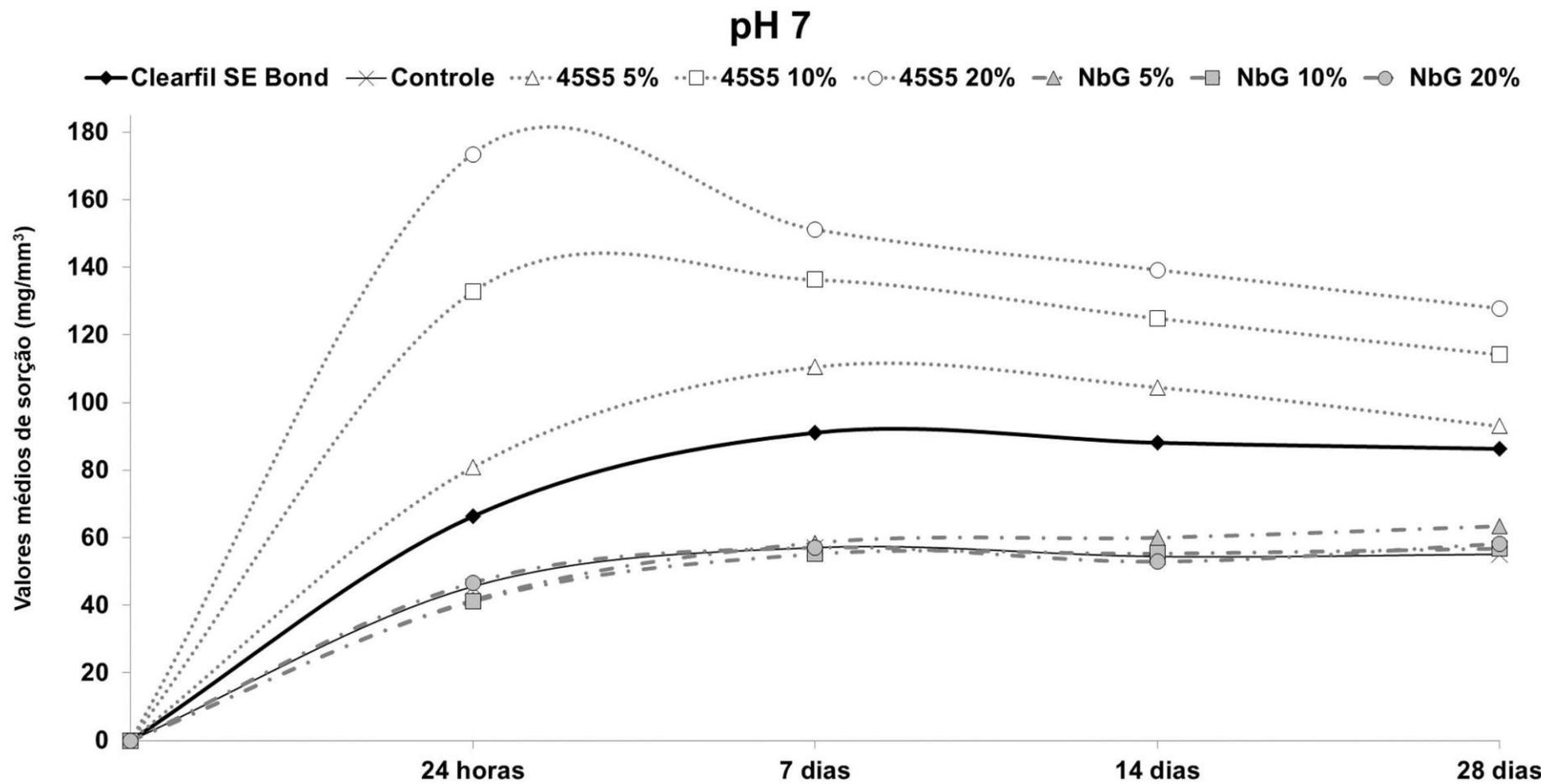


Figura 4. Valores médios de sorção de água (em mg/mm^3), ao longo de 28 dias de avaliação, de amostras dos sistemas adesivos imersos em soluções com pH inicial neutro (pH 7).

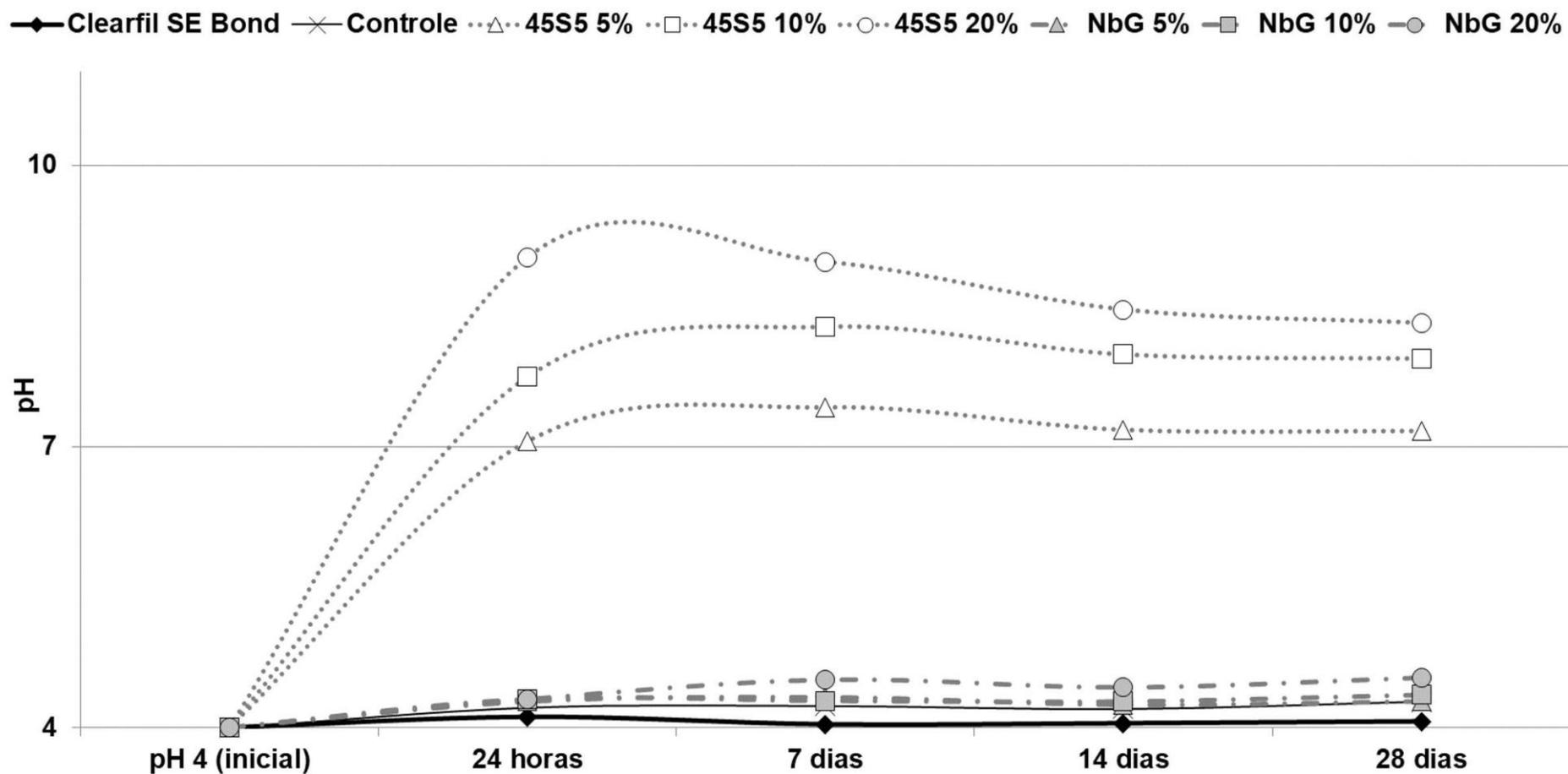


Figura 5. Valores médios de pH das soluções das amostras de sorção e solubilidade imersas em pH inicial ácido (pH 4) durante 28 dias de avaliação.

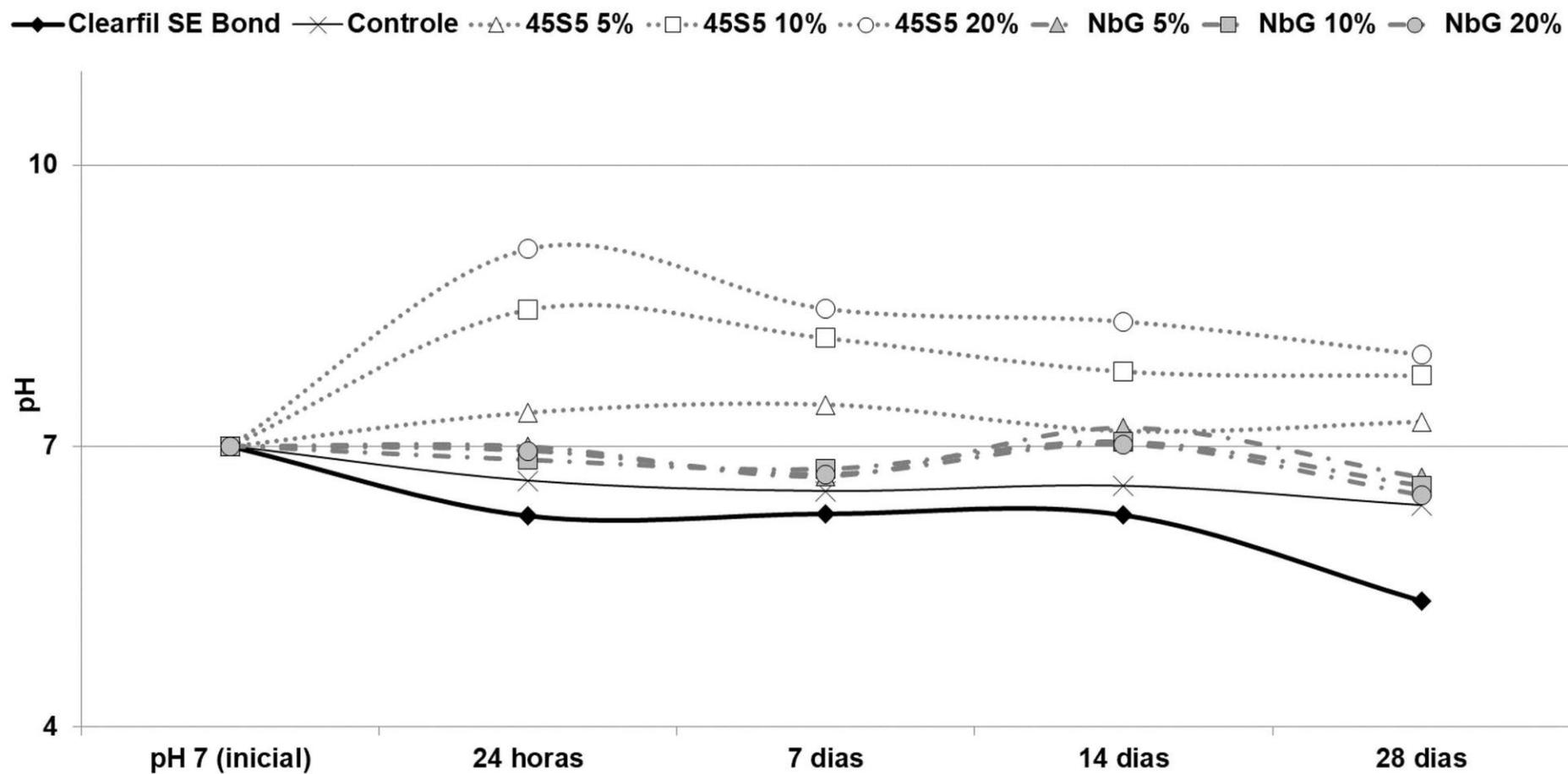


Figura 6. Valores médios de pH das soluções das amostras de sorção e solubilidade imersas em pH inicial neutro (pH 7) durante 28 dias de avaliação.

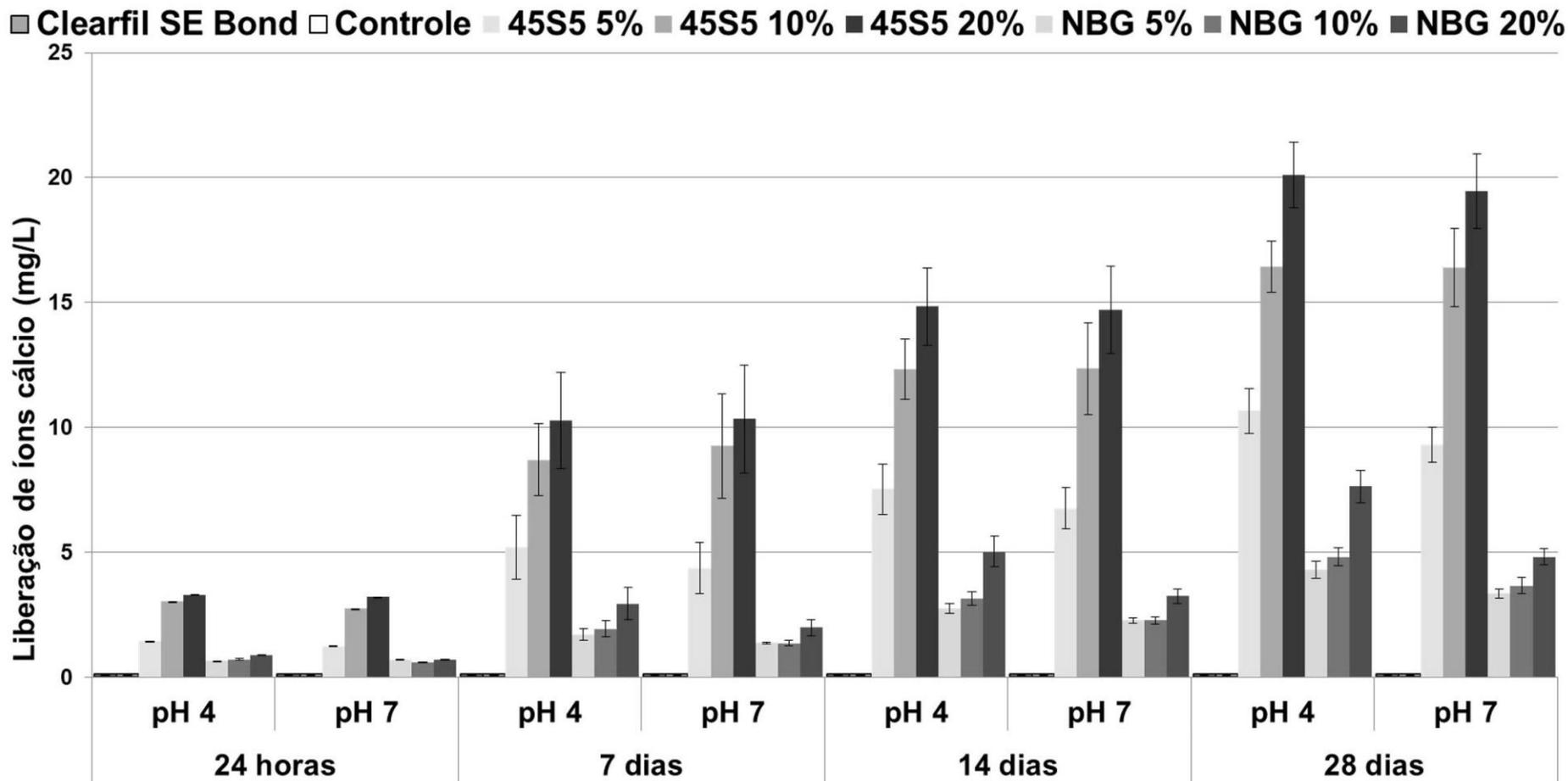


Figura 7. Valores médios (cumulativos) de liberação de íons cálcio (em mg/L), em soluções com pH inicial ácido (pH 4) e neutro (pH 7), após imersão das amostras de sorção e solubilidade ao longo de 28 dias.

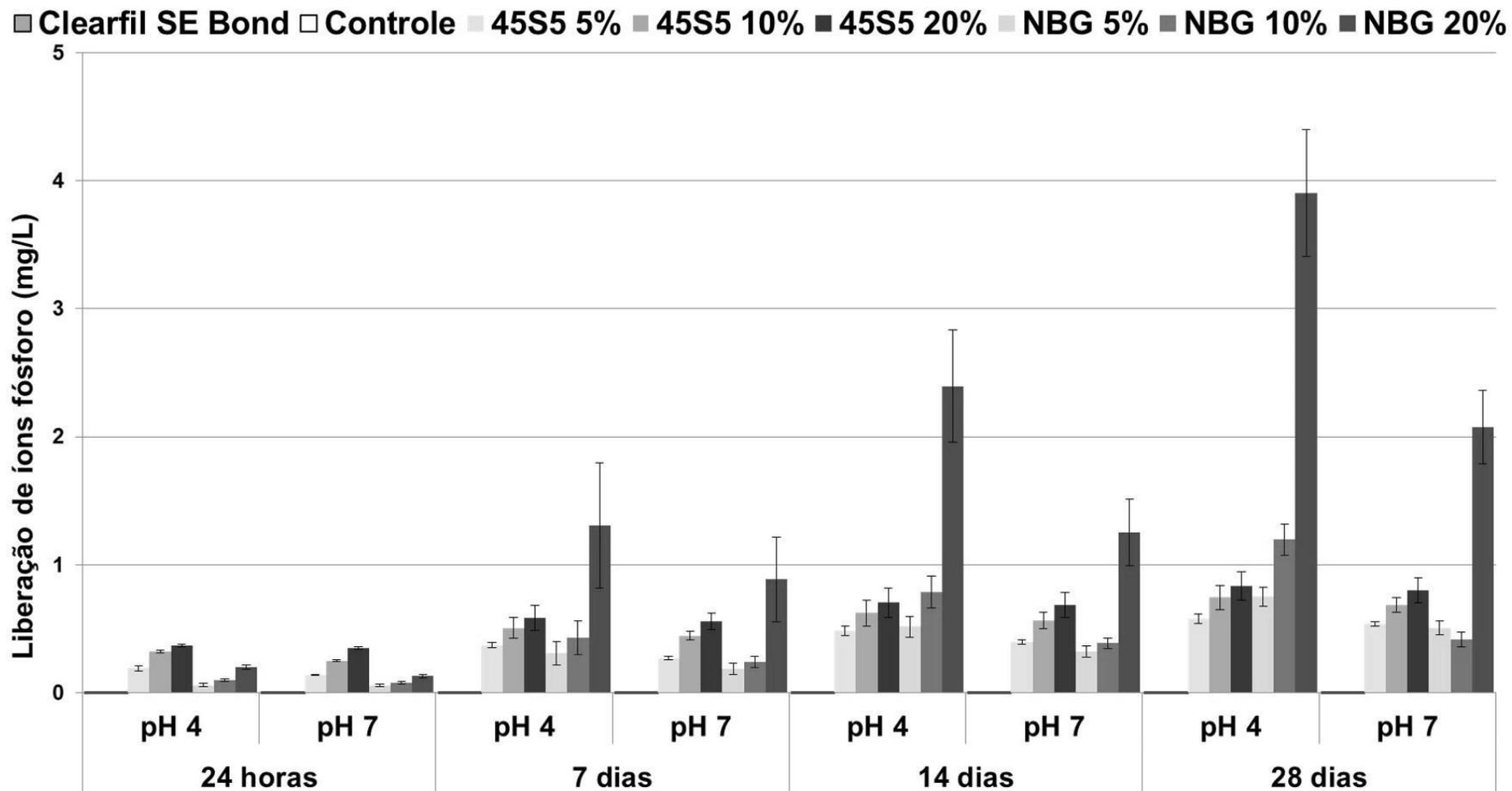


Figura 8. Valores médios (cumulativos) de liberação de íons fósforo (em mg/L), em soluções com pH inicial ácido (pH 4) e neutro (pH 7), após imersão das amostras de sorção e solubilidade ao longo de 28 dias.

Tabela 6. Média e desvio-padrão dos valores de resistência de união à microtração (Mpa), após 24 horas e um ano de armazenamento, dos sistemas adesivos avaliados.

Adesivo	Resistência de união (MPa)	
	24 horas	1 ano
<i>Clearfil SE Bond</i>	48,0 (7,0) Aa	28,0 (3,5) Ab
<i>Controle</i>	30,7 (3,5) BCDA	15,0 (2,4) Bb
<i>45S5 5%</i>	30,8 (5,5) BCDA	30,7 (5,3) Aa
<i>45S5 10%</i>	26,0 (5,4) BCDA	26,0 (4,7) ABa
<i>45S5 20%</i>	20,1 (3,1) Da	20,8 (3,3) ABa
<i>NbG 5%</i>	35,8 (7,7) Ba	28,7 (6,4) Aa
<i>NbG 10%</i>	22,0 (7,1) CDA	21,9 (11,1) ABa
<i>NbG 20%</i>	32,8 (5,2) BCa	32,2 (13,0) Aa

*Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas na mesma coluna ($p < 0,05$).

**Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas na mesma linha ($p < 0,05$).

Após um ano de armazenamento, todos os materiais contendo vidros bioativos foram capazes de manter os valores de RU. Já para os adesivos Clearfil SE Bond e controle experimental foi possível observar uma queda significativa nesses valores ($p < 0,001$). Os adesivos contendo vidros bioativos, em todas as concentrações, apresentaram valores de RU similares ao Clearfil SE Bond neste período de avaliação.

A distribuição dos padrões de fraturas dos espécimes, em todas as condições avaliadas, está representada na Figura 9. Em todos os grupos e períodos de armazenamento, as fraturas do tipo adesiva foram predominantes. Imagens representativas em MEV dos espécimes fraturados nos dois períodos de armazenamento estão apresentadas nas Figuras 10 e 11. Foi possível observar um padrão de desmineralização da dentina semelhante entre o sistema adesivo comercial (Clearfil SE Bond) e os materiais experimentais. Em todos os grupos contendo vidros bioativos, nos dois períodos de avaliação, foi possível confirmar a presença das micropartículas bioativas distribuídas entre a camada adesiva (setas brancas).

3.8 Nanoinfiltração

Os resultados da análise de nanoinfiltração da interface de união estão apresentados na Tabela 7. A ANOVA demonstrou uma interação significativa entre os fatores ($p < 0,001$). A incorporação dos vidros 45S5 na maior concentração avaliada (20%) e NbG (em todas as concentrações) foram capazes de diminuir a nanoinfiltração interfacial, quando comparados aos dois

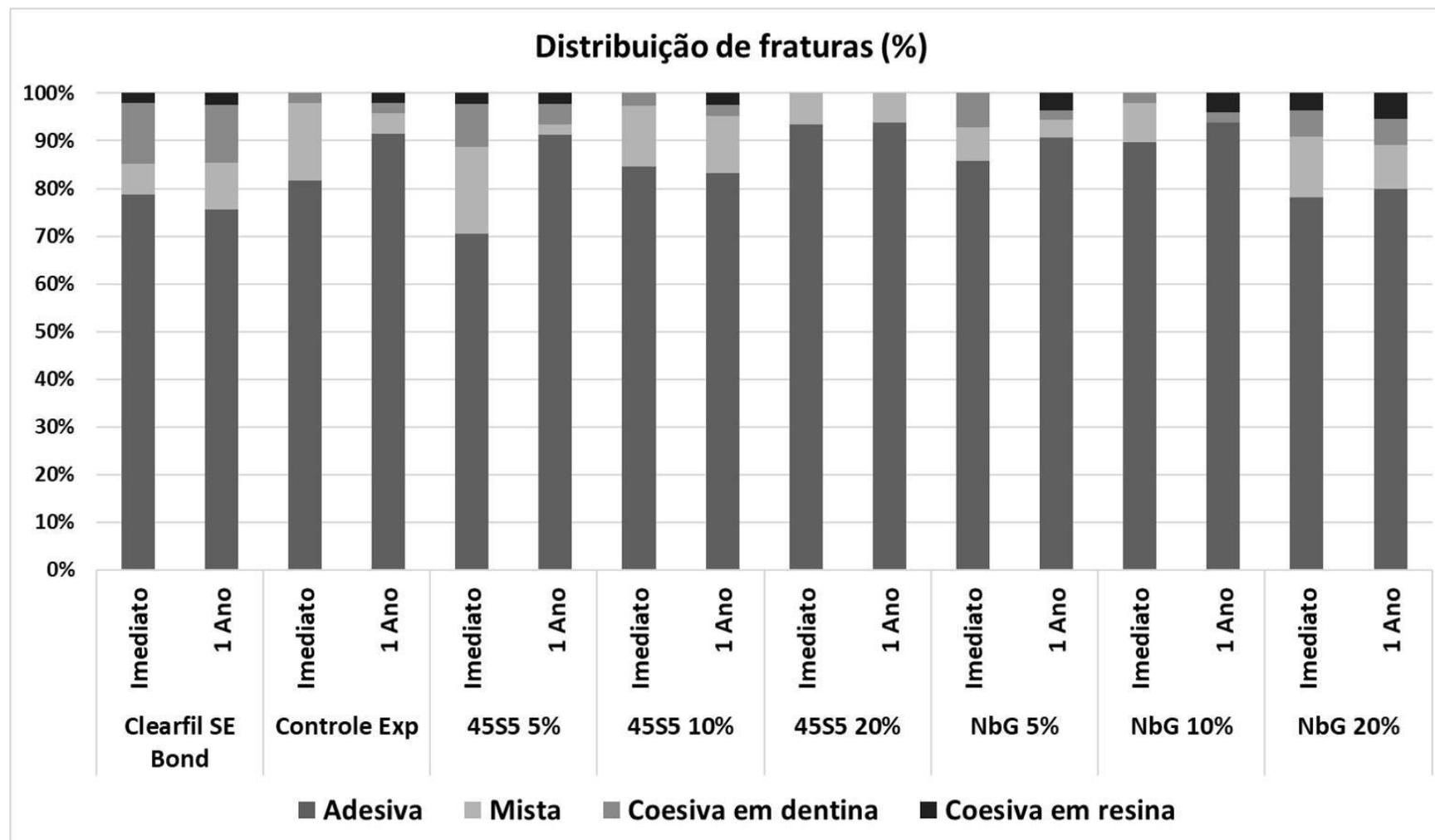


Figura 9. Distribuição dos padrões de fratura (em %) das amostras do ensaio de resistência de união à microtração após 24 horas (imediate) e 1 ano de armazenamento.

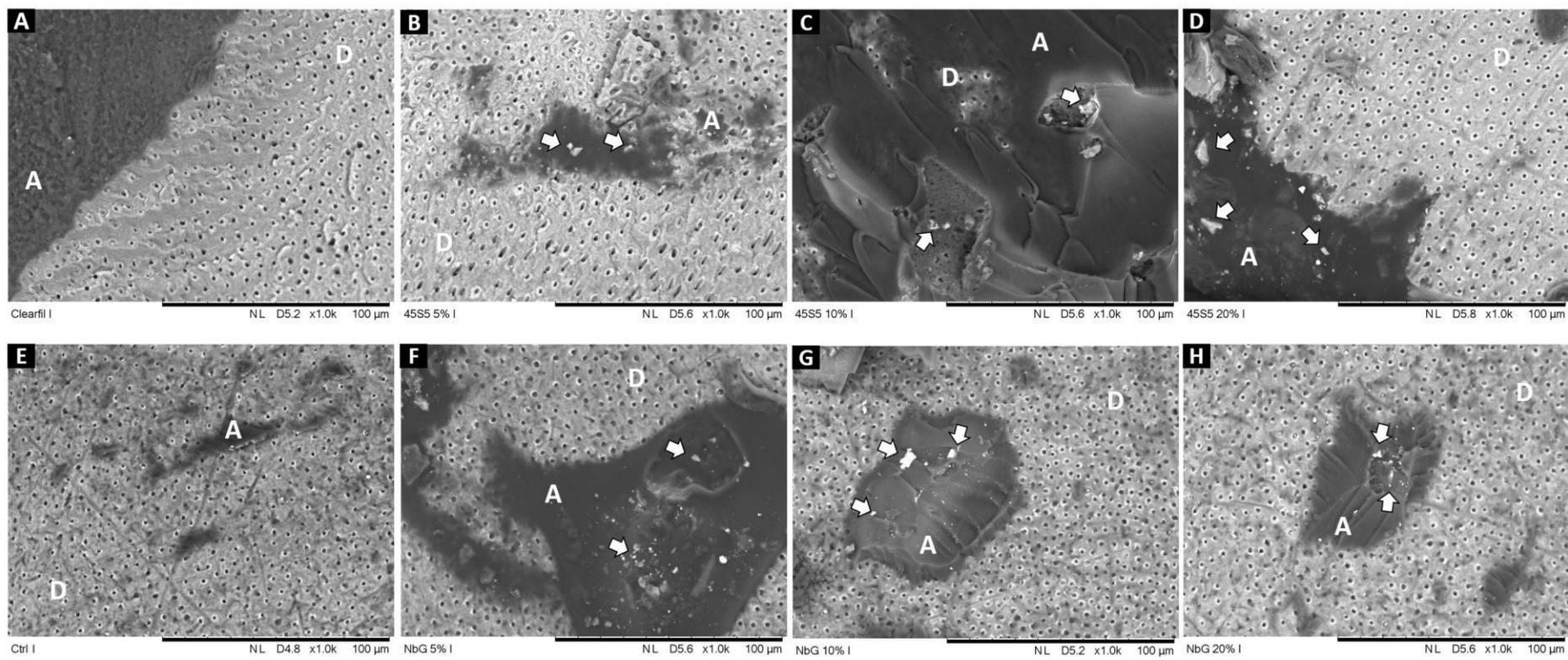


Figura 10. Imagens em MEV representativas dos espécimes fraturados (lado dentinário) durante o ensaio de resistência de união imediato (24 horas) (magnificação: x1000, escala: 100 µm). A: Clearfil SE Bond; B: 45S5 5%; C: 45S5 10%; D: 45S5 20%; E: Controle experimental; F: NbG 5%; G: NbG 10%; H: NbG 20%. (D: dentina, A: adesivo, setas brancas: partículas de vidro bioativo).

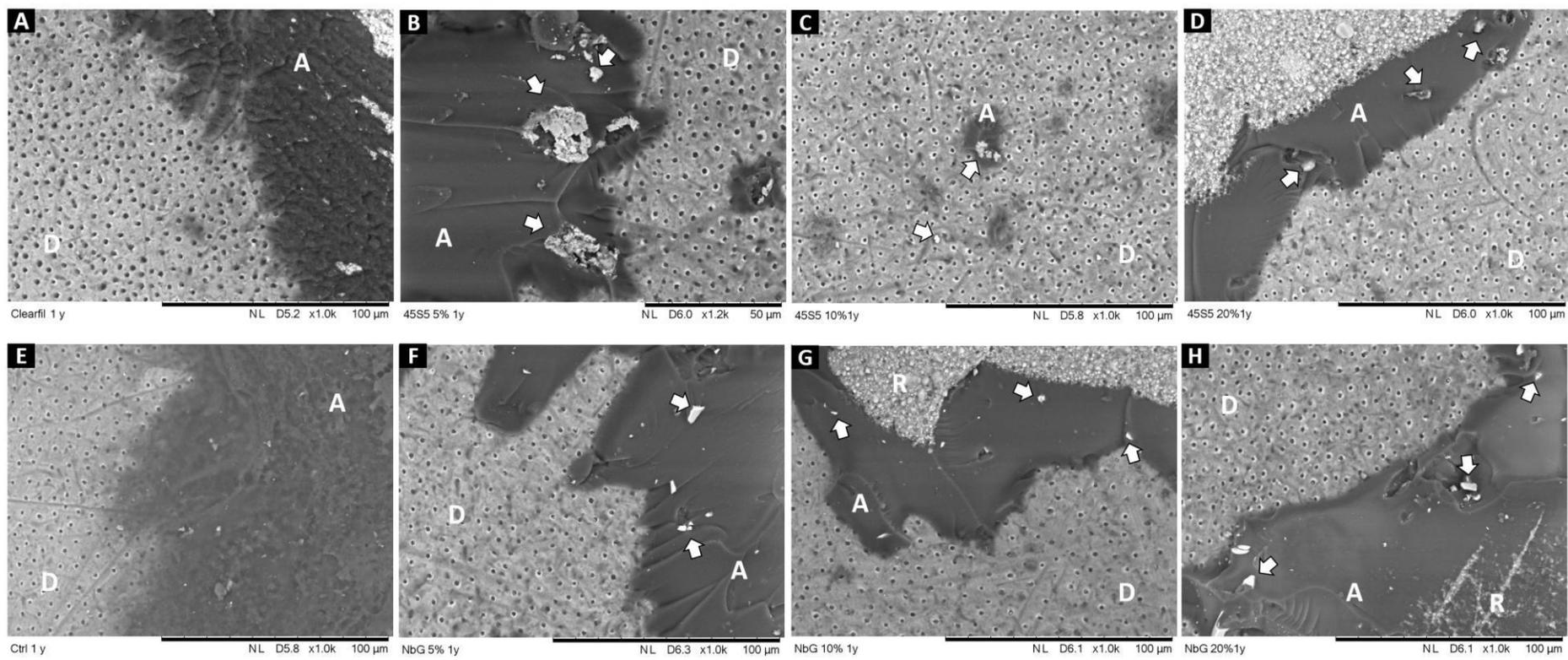


Figura 11. Imagens em MEV representativas dos espécimes fraturados (lado dentinário) durante o ensaio de resistência de união após um 1 ano de armazenamento (magnificação: x1000, escala: 100 µm). A: Clearfil SE Bond; B:45S5 5%; C: 45S5 10%; D: 45S5 20%; E: Controle experimental; F: NbG 5%; G: NbG 10%; H: NbG 20%. (D: dentina, A: adesivo, R: resina, setas brancas: partículas de vidro bioativo).

adesivos controles ($p < 0,01$) após 24 horas de armazenamento. Não houve diferença significativa entre o controle experimental e Clearfil SE Bond.

Tabela 7. Média e desvio-padrão da nanoinfiltração interfacial (em %), após 24 horas e um ano de armazenamento, dos sistemas adesivos avaliados.

Adesivo	Nanoinfiltração (%)	
	24 horas	1 ano
Clearfil SE Bond	5,1 (1,2) Ab	10,9 (2,6) Aa
Controle	5,2 (1,9) Ab	9,0 (2,9) Aa
45S5 5%	2,4 (1,5) ABa	1,3 (0,7) Ba
45S5 10%	3,4 (1,4) ABa	2,7 (1,0) Ba
45S5 20%	1,8 (0,4) Ba	1,0 (0,7) Ba
NbG 5%	1,3 (0,5) Ba	1,9 (0,6) Ba
NbG 10%	1,2 (0,4) Ba	1,6 (0,9) Ba
NbG 20%	1,6 (0,5) Ba	2,1 (0,5) Ba

* Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas na mesma coluna ($p < 0,05$).

** Letras minúsculas diferentes indicam diferenças estatísticas na mesma linha ($p < 0,05$).

Após um ano de armazenamento, todos os grupos contendo vidros bioativos foram capazes de manter os valores de nanoinfiltração estáveis, quando comparados ao período de avaliação inicial. Já para os adesivos Clearfil SE Bond e controle, foi possível observar aumento nestes valores ($p < 0,001$).

Imagens representativas da nanoinfiltração interfacial de todos os grupos, nos dois períodos de avaliação, estão apresentadas nas Figuras 12 e 13. No período de avaliação imediato (24 horas), foi possível observar pequenos depósitos de nitrato de prata (setas brancas) para todos os sistemas adesivos. Por outro lado, após 1 ano de armazenamento, foram identificados maiores depósitos de nitrato de prata nos grupos controle (Figuras 13A e 13E). Em algumas amostras, também foi possível detectar a presença de partículas de vidro na camada adesiva (asteriscos).

3.9 Bioatividade

Imagens em MEV das amostras de bioatividade estão apresentadas na Figura 14. Para os grupos contendo vidro 45S5, em todas as concentrações, foi possível observar a formação de precipitados de formato esférico (Figuras 14B, 14C e 14D), com formação em grande volume desses precipitados sendo observado para o adesivo 45SS 20%. Já para os grupos Clearfil SE Bond,

controle e NbG (em todas as concentrações), não houve formação de precipitados.

A análise das amostras em FTIR/ATR demonstrou a presença de picos discretos de 1418 cm^{-1} , correspondente ao carbonato de cálcio, para as amostras contendo 45S5 (Figura 15). Não foi possível observar a presença de picos de precursores de hidroxiapatita nos demais sistemas adesivos avaliados (Figura 16).

Espectros de difração de Raios-X estão representados nas Figuras 17 e 18. Os sistemas adesivos contendo o vidro bioativo 45S5 (Figura 17), em todas as concentrações, apresentaram picos de carbonato de cálcio (ICDD *card* #01-083-0578) e hidroxiapatita (ICDD *card* #01-073-0293). Não foi possível observar a presença de picos de hidroxiapatita ou seus precursores nos demais grupos avaliados (Figura 18).

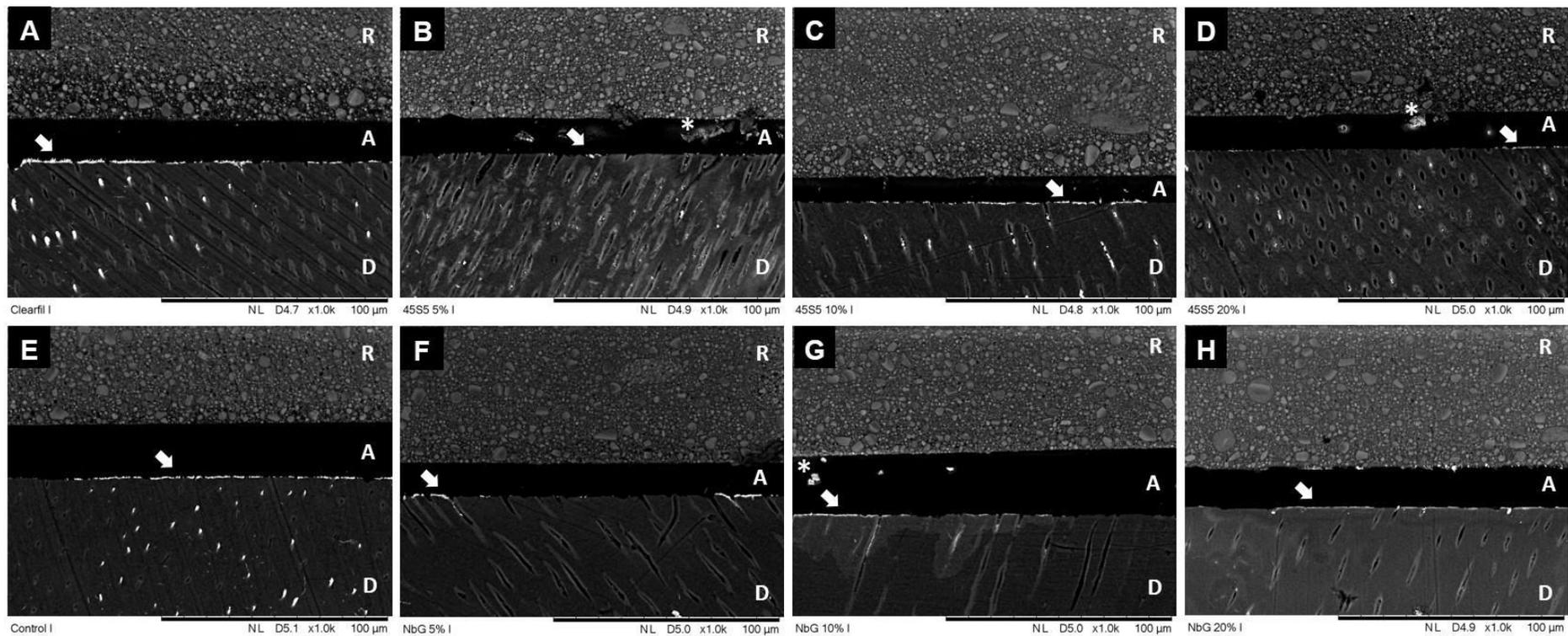


Figura 12. Imagens representativas em MEV da nanoinfiltração interfacial dos sistemas adesivos após 24 horas de armazenamento (magnificação: x1000, escala: 100 µm). A: Clearfil SE Bond; B: 45S5 5%; C: 45S5 10%; D: 45S5 20%; E: Controle experimental; F: NbG 5%; G: NbG 10%; H: NbG 20%. (D: dentina, A: adesivo, R: resina, setas brancas: nitrato de prata, asteriscos: partículas de vidro bioativo).

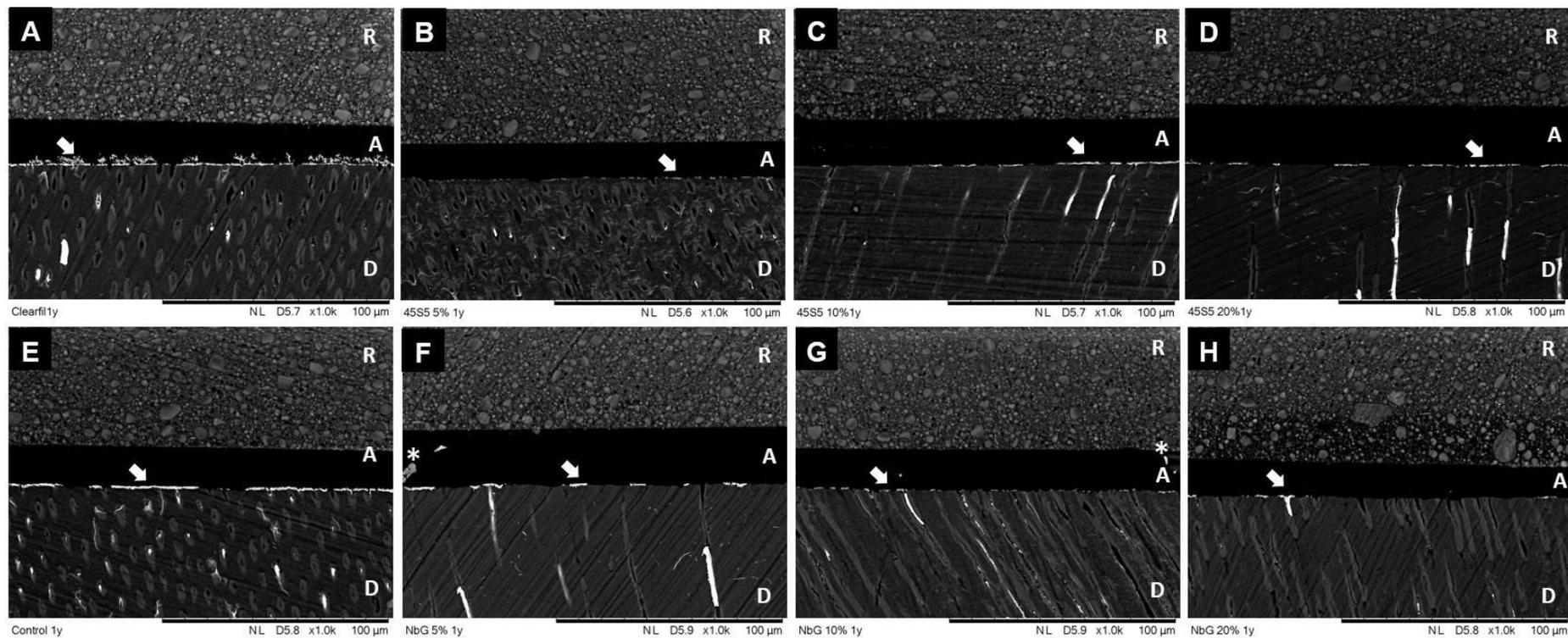


Figura 13. Imagens representativas em MEV da nanoinfiltração interfacial dos sistemas adesivos após 1 ano de armazenamento (magnificação: x1000, escala: 100 μm). A: Clearfil SE Bond; B:45S5 5%; C: 45S5 10%; D: 45S5 20%; E: Controle experimental; F: NbG 5%; G: NbG 10%; H: NbG 20%. (D: dentina, A: adesivo, R: resina, setas brancas: nitrato de prata, asteriscos: partículas de vidro bioativo).

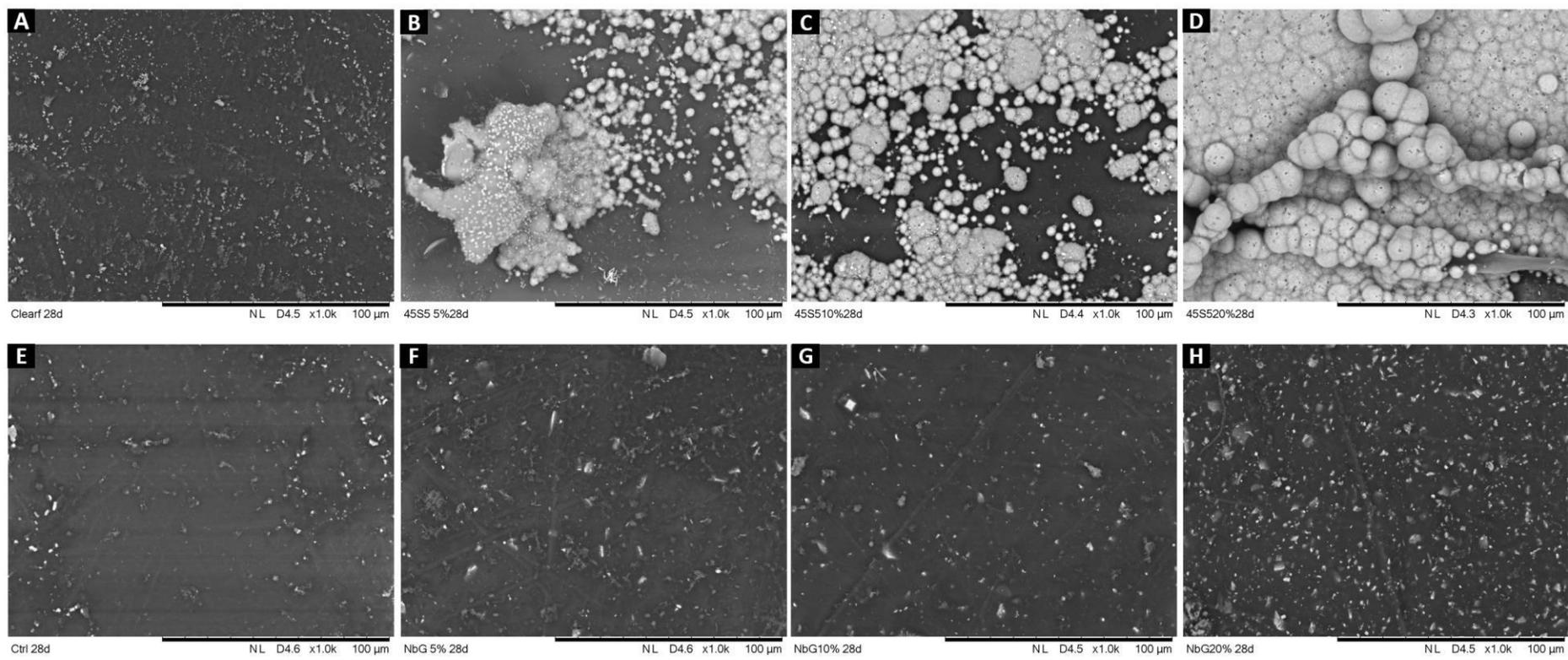


Figura 14. Imagens representativas em MEV de amostras de todos os sistemas adesivos após imersão em solução de fluido corporal simulado (SBF) por 28 dias (magnificação: x1000, escala: 100 μm). A: Clearfil SE Bond; B: 45S5 5%; C: 45S5 10%; D: 45S5 20%; E: Controle experimental; F: NbG 5%; G: NbG 10%; H: NbG 20%.

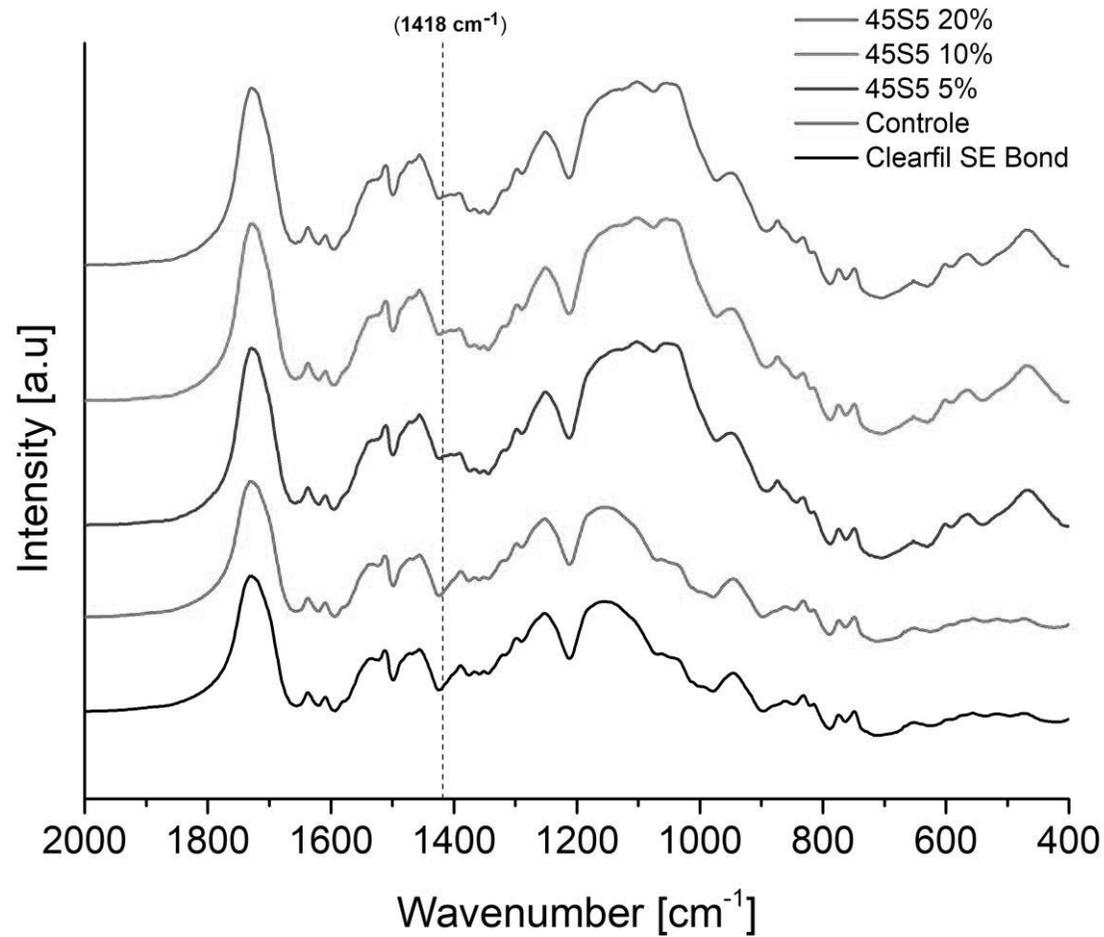


Figura 15. Espectros de FTIR de amostras de sistemas adesivos contendo o vidro 45S5 e controles após imersão em solução de fluido corporal simulado (SBF) por 28 dias. Para os materiais contendo 45S5 é possível observar a presença de picos correspondentes a bandas de carbonato de cálcio (1418 cm^{-1}).

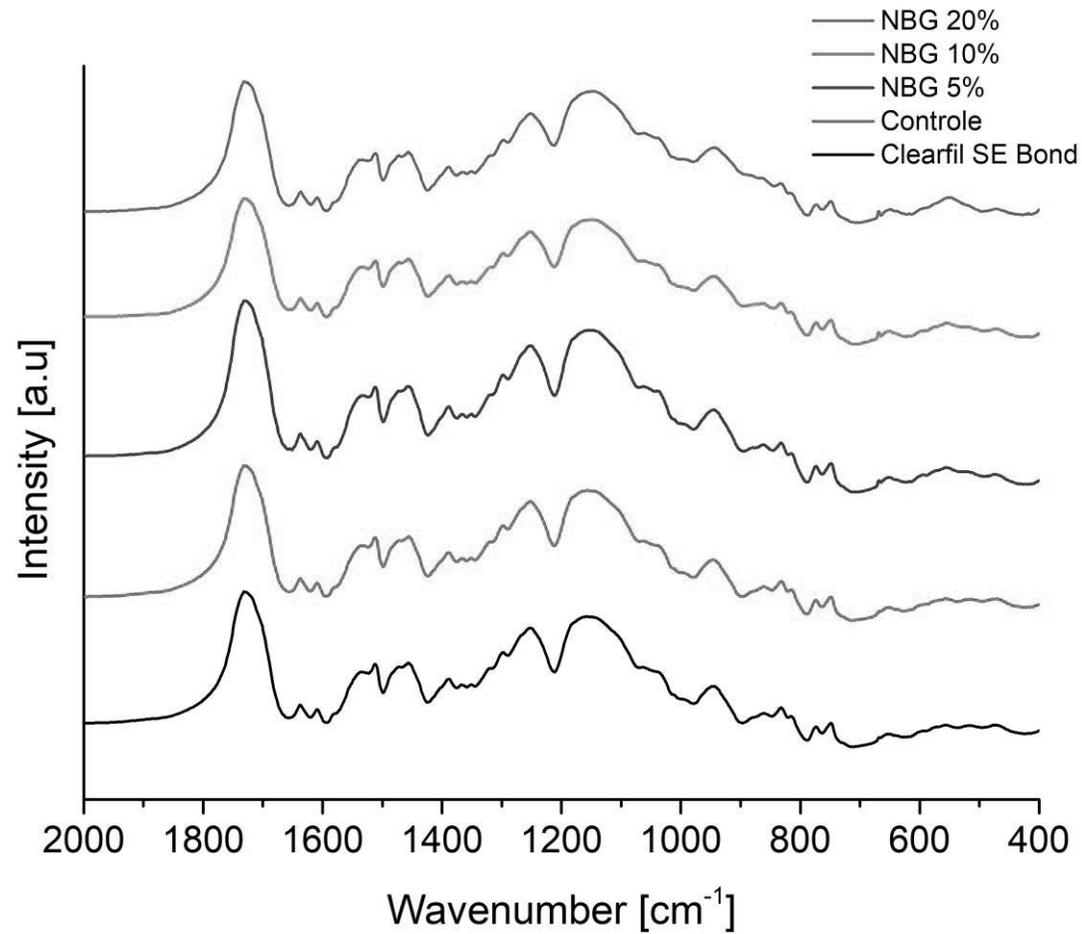


Figura 16. Espectros de FTIR de amostras de sistemas adesivos contendo o vidro NbG (e controles) após imersão em solução de fluido corporal simulado (SBF) por 28 dias. Para os materiais contendo NbG não foi possível observar a presença de picos correspondentes a bandas de precipitados bioativos.

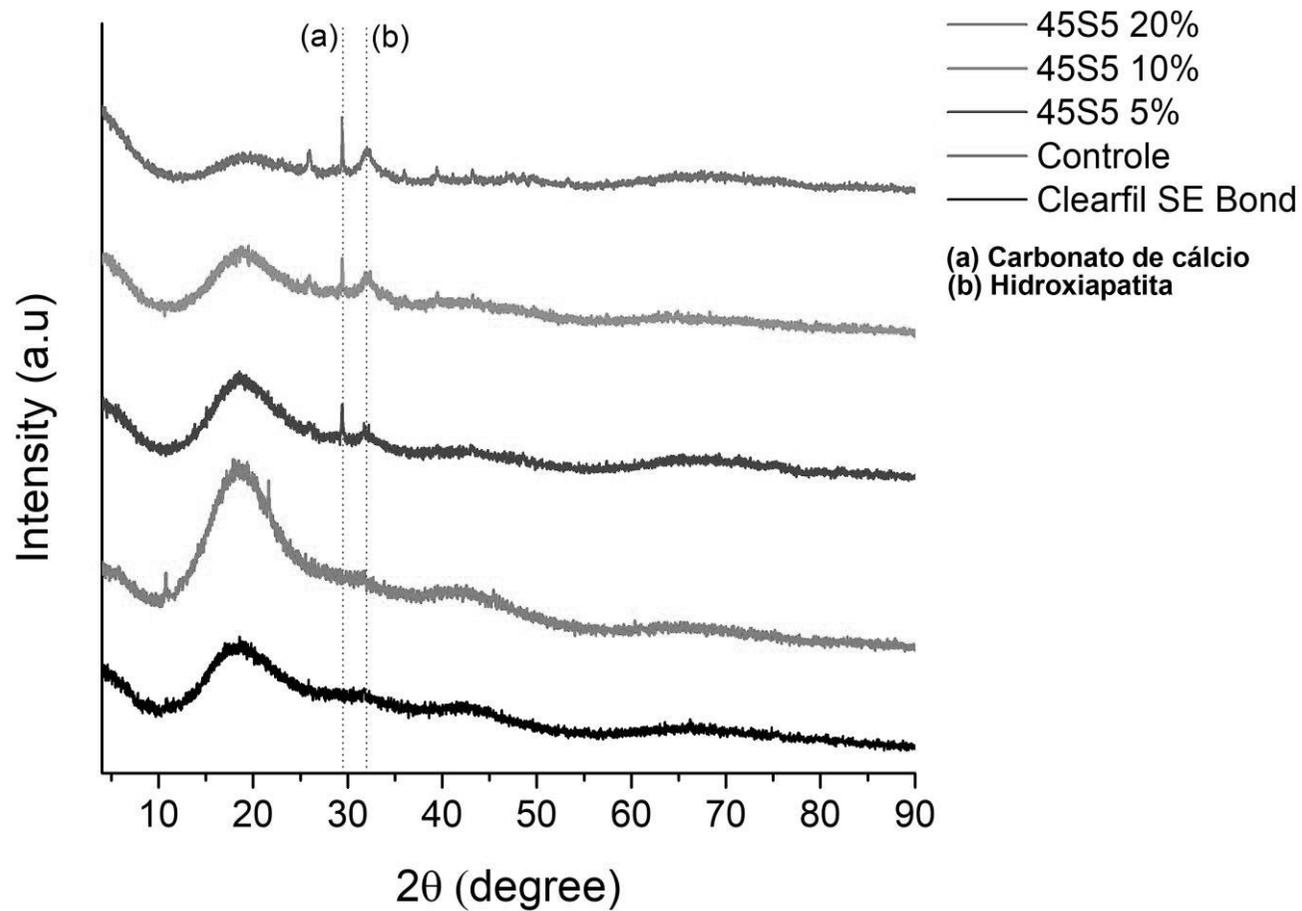


Figura 17. Espectros de difração de Raios-X (DRX) de amostras de sistemas adesivos contendo o vidro 45S5 (e controles) após imersão em solução de fluido corporal simulado (SBF) por 28 dias. Para os materiais contendo 45S5, foi possível observar a presença de picos correspondentes a precipitados de carbonato de cálcio (a) e hidroxiapatita (b).

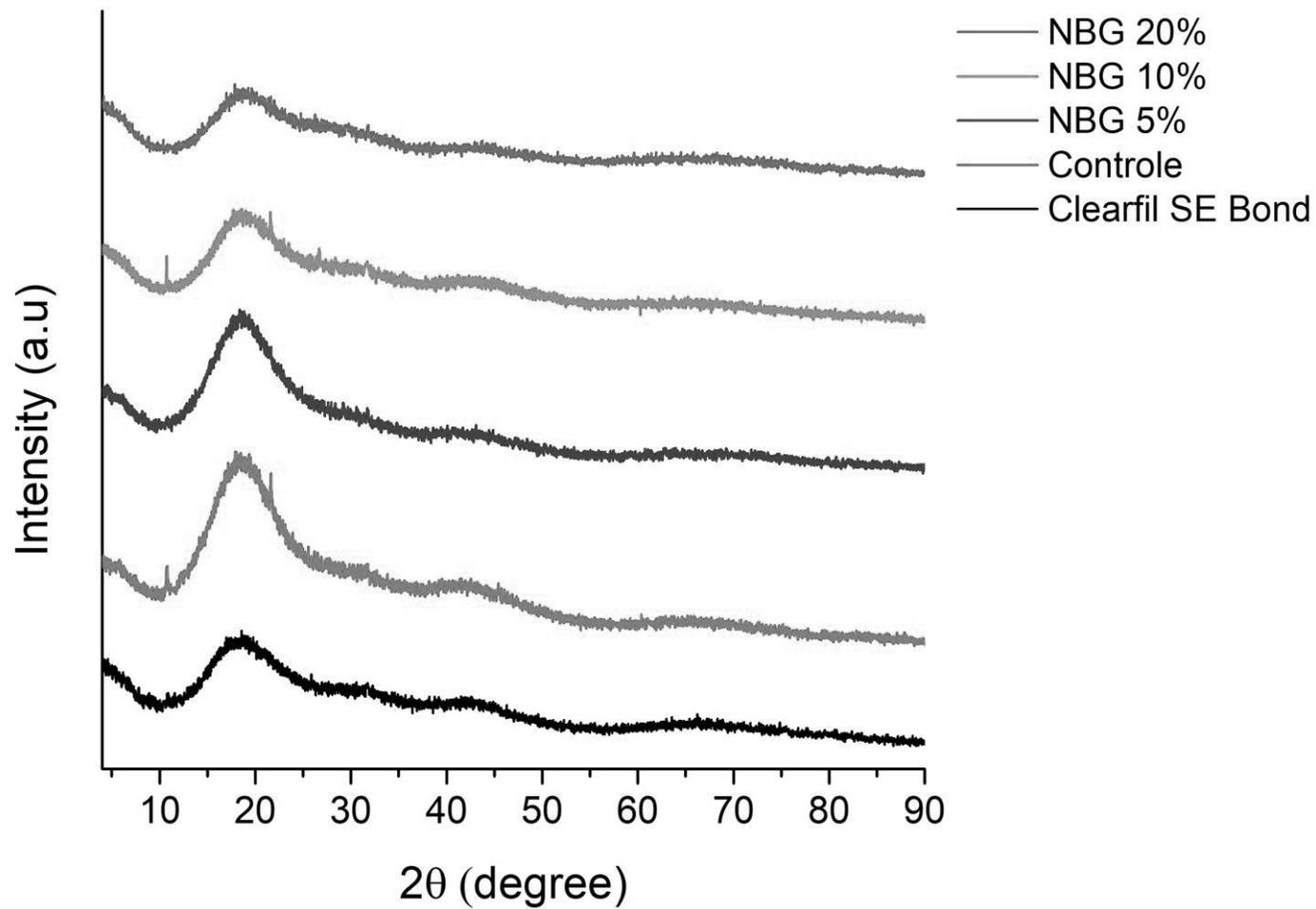


Figura 18. Espectros de difração de Raios-X (DRX) de amostras de sistemas adesivos contendo o vidro NbG (e controles) após imersão em solução de fluido corporal simulado (SBF) por 28 dias. Para os materiais contendo NbG, não foi possível observar a presença de picos correspondentes a precipitados bioativos.

4. Discussão

A adição de vidros bioativos em materiais adesivos favorece a liberação de íons que podem contribuir na remineralização dos tecidos dentais e evitar a degradação da interface material/substrato. Dentro desse contexto, o presente estudo investigou o impacto da incorporação de micropartículas de dois vidros bioativos (45S5 e NbG), com três diferentes concentrações (5%, 10% e 20%), em diversas propriedades de sistemas adesivos autocondicionantes experimentais. Além disso, estes materiais foram comparados a um adesivo controle sem partículas (controle experimental) e um adesivo comercial padrão-ouro (Clearfil SE Bond). Os resultados demonstraram que, a depender do tipo e concentração de partículas empregadas, a inclusão dos vidros bioativos propiciou características desejáveis aos sistemas adesivos, como a capacidade de liberação de íons, controle de pH e bioatividade, sem comprometer as propriedades mecânicas desses materiais. Portanto, a hipótese nula foi rejeitada.

As partículas de carga são um componente fundamental de compósitos dentais resinosos [41]. Sabe-se que as propriedades mecânicas destes materiais estão intimamente ligadas a fatores relacionados a essas partículas, como o formato, concentração e o tamanho [42,43]. Em um estudo que avaliou a incorporação de partículas inorgânicas em sistemas adesivos autocondicionantes, os resultados demonstraram que a adição desse componente foi capaz de promover melhoria das propriedades mecânicas desses materiais [44]. Sendo assim, diferenças na granulometria das partículas podem agir como um fator de variação quando diferentes materiais são comparados. Neste trabalho, a processo de moagem foi capaz de produzir partículas com tamanho e formato similares para os dois vidros bioativos utilizados (Figura 1), o que permitiu uma maior padronização dos sistemas adesivos avaliados.

Em materiais resinosos, um alto grau de conversão frequentemente está associado a melhores propriedades mecânicas [35]. Amirouche-Korichi *et al.* [45] relataram que a mobilidade das cadeias monoméricas pode ser restringida pela presença de partículas, ressaltando que a morfologia e concentração da carga exercem influência significativa no grau de conversão dos materiais. Por outro

lado, sua presença na matriz orgânica pode diminuir o espaço intersticial onde a copolimerização de cadeias opostas está ocorrendo, potencializando a conversão dos monômeros [44,46].

A interação entre esses fatores pode explicar os resultados conflitantes encontrados na literatura. Em um estudo sobre a incorporação de partículas de 45S5 em compósitos, concentrações superiores a 5% exerceram um efeito negativo no grau de conversão e cinética de polimerização dos materiais [47]. Já em outra pesquisa, a adição de nanopartículas de 45S5 (até 20%) em materiais resinosos foi capaz de aumentar o grau de conversão [16]. No presente trabalho, a adição de até 20% de partículas dos dois vidros utilizados não influenciou negativamente no grau de conversão, quando comparados ao adesivo controle experimental. Este resultados corroboram com os achados de outros estudos que avaliaram o grau de conversão de sistemas adesivos funcionalizados com partículas de NbG [13,38]. Isso sugere que a polimerização de materiais resinosos é um processo complexo, em que o controle das variáveis envolvidas pode auxiliar na obtenção de materiais com melhores propriedades mecânicas.

A incorporação de partículas em materiais resinosos pode aumentar a resistência coesiva do material, agindo como obstáculos dentro da matriz polimérica e evitando a propagação de trincas [48,49]. No entanto, a formação de grandes aglomerados (clusters) de partículas agem como um sítio de concentração de estresse, levando à redução de propriedades mecânicas [50]. Neste estudo, a incorporação de micropartículas dos vidros 45S5 e NbG na maior concentração (20%) foi capaz de aumentar a resistência coesiva dos sistemas adesivos, atingindo valores similares ao adesivo comercial (Clearfil SE Bond). Esse resultado pode estar relacionado a uma distribuição mais uniforme das partículas na matriz orgânica, como apontado por Belli *et al.* [44].

O teste de amolecimento em solvente é uma forma de estimar a densidade de ligações cruzadas e a formação tridimensional de uma rede de polímeros, especialmente em compósitos resinosos [39]. Materiais com alta densidade dessas ligações, frequentemente são mais resistentes à degradação em solvente, enquanto polímeros com ligações lineares tendem a apresentar um comportamento inverso [39,51]. Solventes tem a capacidade de plastificar os polímeros, levando a um processo de relaxamento e separação das ligações em cadeia [52]. Dessa forma, a seleção de um *blend* de monômeros que maximizem

a formação de duplas ligações (TEGDMA, por exemplo), levando à formação de cadeias estruturalmente mais fortes, podem produzir materiais com melhores propriedades mecânicas [35].

No presente trabalho, apesar do adesivo Clearfil SE Bond ter apresentado valores superiores de microdureza inicial em relação aos adesivos experimentais, após 24 horas de imersão em etanol, este material apresentou o maior percentual de amolecimento. Por outro lado, todos os adesivos experimentais contendo vidro apresentaram menor taxa de amolecimento, com resultados similares ao grupo controle experimental. Esses resultados demonstram que a presença dos vidros bioativos não influenciou na taxa de amolecimento dos materiais, sugerindo que a formação das cadeias poliméricas não foi prejudicada pela presença das partículas bioativas. Estes resultados corroboram com os achados observados para o grau de conversão e resistência coesiva desses materiais.

Os sistemas adesivos são materiais tipicamente radiolúcidos. Dessa forma, a adição de partículas com elementos de alto peso atômico podem conferir radiopacidade a esses materiais [53]. Mais frequentemente, são utilizados óxidos de metais e semimetals radiopacificantes, como o silício, bário, titânio, bismuto, estrôncio e o zircônio [54]. O desenvolvimento de resinas radiopacas é de relevância clínica por facilitar o diagnóstico de falhas das restaurações, principalmente a presença de cáries secundárias [55].

O vidro 45SS, em sua composição original, não apresenta radiopacidade. Por esse motivo, tem sido proposta a síntese de variações da composição do 45S5 com a adição de radiopacificantes [16]. Neste trabalho, foram empregadas micropartículas de 45S5 sem modificações em sua composição, o que explica os resultados observados, onde os sistemas adesivos contendo 45S5 apresentaram aspecto radiográfico semelhante aos controles. No entanto, estudos anteriores, que empregaram partículas de pentóxido de nióbio (Nb_2O_5) [56] e NbG [13,38] como carga, foram capazes de produzir sistemas adesivos radiopacos, o que não foi possível observar no presente estudo. Esses resultados conflitantes podem estar relacionados às diferenças na concentração de NbG utilizada (30 a 40%), no tamanho das partículas (em média 10 μm) ou o uso direto de 20% de Nb_2O_5 , que é altamente radiopaco.

No ambiente bucal, materiais poliméricos frequentemente absorvem água (sorção) enquanto podem, de maneira inversa, liberar componentes (solubilidade) para o meio [35]. A permeabilização de água na matriz polimérica frequentemente é responsável pela rápida degradação dos materiais adesivos, gerando falhas nas interfaces [57]. O presente trabalho demonstrou que a adição de 45S5, em concentrações de 5 a 20%, promoveu um aumento significativo na sorção (Figuras 3 e 4) e solubilidade desses materiais. Tal comportamento foi similar tanto em soluções com pH inicial ácido (4) quanto neutro (7), o que reforça o potencial do vidro 45S5 de liberar íons e interagir com o meio bucal, mesmo quando incluídos em materiais resinosos. Esses resultados estão em conformidade com outros estudos que avaliaram materiais semelhantes [35,58]. Vale ressaltar que, segundo Profeta *et al.* [58], essa característica hidrofílica pode ser benéfica para materiais que visam a criação de interfaces biointerativas, como no presente estudo.

Na análise de pH, foi possível observar que os materiais contendo 45S5 tiveram a capacidade de alcalinizar o meio aquoso, independentemente do pH inicial da solução, de maneira dose-dependente (Figuras 5 e 6). A habilidade desse vidro de alcalinizar soluções aquosas se dá pela liberação rápida de íons de caráter básico (como o sódio) e captura de prótons de hidrogênio, que são incorporados à superfície das partículas [16]. Conseqüentemente, a elevação do pH do meio para valores entre 8-10 propicia o *range* ideal para formação de precipitados bioativos [59], além de demonstrar o potencial antimicrobiano desses materiais [60].

Com relação a análise de liberação iônica, foi observado que os materiais contendo 45S5 liberaram íons Ca^{2+} em uma proporção superior aos íons PO_4^{3-} , em uma relação dose-dependente. Vidros silicatos, como o 45S5, tem como característica fundamental a capacidade de formar compostos à base de cálcio (como o carbonato de cálcio) em água, que são compostos básicos responsáveis pelo efeito antibacteriano desses materiais [60]. Já os íons fosfato exercem um papel estrutural na formação dos vidros bioativos, além de serem capazes de estabelecer ligações entre os átomos de oxigênio e as moléculas de água adsorvidas [61,62]. Isso pode explicar a baixa liberação de PO_4^{3-} observada no presente estudo.

Por outro lado, a incorporação de partículas de NbG não teve efeito sobre a sorção e solubilidade dos sistemas adesivos, assim como não foi capaz de alcalinizar as soluções aquosas e promoveram a liberação de pequenas quantidades de cálcio e fosfato. Estudos anteriores já demonstraram que esse material, em forma de pó, tem a capacidade de neutralizar soluções de pH ácido e liberar íons de forma significativa [14,63]. Isso sugere que os íons eventualmente liberados pelas partículas de NbG possam ter sido aprisionados na matriz polimérica, o que explicaria os resultados encontrados neste estudo.

A incorporação de partículas de vidro nos sistemas adesivos, em todas as condições avaliadas, não influenciou negativamente na resistência de união à microtração imediata desses materiais (Tabela 6), quando comparados ao controle experimental (sem partículas). No entanto, todos os adesivos experimentais apresentaram valores médios de RU inferiores ao controle comercial Clearfil SE Bond, considerado padrão-ouro para adesivos autocondicionantes. Os achados deste trabalho estão de acordo com estudos prévios que avaliaram a incorporação desses vidros bioativos na interface resina-dentina, seja pela inclusão em sistemas adesivos [13,38], outras formas de incorporação, como jateamento da dentina [64], ou aplicação de suspensões bioativas [14,65].

A degradação da camada adesiva, evidenciada pela redução na resistência de união, pode ser observada após períodos de armazenamento curtos, como 3 ou 6 meses [66]. Um fator fortemente relacionado a esse fenômeno está ligado à degradação das fibras colágenas desprotegidas durante o condicionamento do substrato dentinário, que não são recobertas em sua totalidade pelo adesivo [67]. Dessa forma, adesivos autocondicionantes podem ser mais resistentes a essa degradação, por promoverem o condicionamento ácido e infiltração de monômeros simultaneamente [68]. Embora tenham sido utilizados sistemas adesivos com esta estratégia de aplicação no presente trabalho, após 1 ano de armazenamento, os grupos controle experimental e Clearfil SE Bond sofreram diminuição significativa na RU. Por outro lado, os sistemas adesivos contendo partículas bioativas, independentemente da concentração, foram capazes de manter valores de RU estáveis. Isso sugere que os vidros 45S5 e NbG tenham exercido influência sobre esses achados.

Como demonstrado anteriormente, os vidros bioativos são capazes de liberar íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} , promovendo a deposição mineral na dentina desmineralizada e a formação de precursores de hidroxiapatita, quando em contato com fluidos corporais ou soluções que simulem essas condições [21,36]. Além disso, estes biomateriais podem agir sobre o processo de degradação do colágeno ao liberarem íons que podem se agregar às MMPs, formando complexos (CaP-MMP) que estão relacionados com a redução da atividade enzimática [19,69]. Outras propriedades desses materiais, como a capacidade de elevar o pH do meio, podem contribuir para a diminuição da atividade das MMPs [65]. Todos esses fatores parecem estar relacionados com a manutenção da resistência de união nos sistemas adesivos contendo 45S5 e NbG observada neste estudo.

A utilização de sistemas adesivos contendo 45S5 a 20% e NbG (5,10 e 20%) foi capaz de diminuir os valores de nanoinfiltração imediata desses materiais, quando comparadas aos controles avaliados. Gutiérrez *et al.* [70], em um estudo sobre a incorporação de partículas de cobre e zinco em adesivos universais, levantaram hipóteses de que a presença dessas partículas na interface possa ser capaz de agir como agentes de reforço da rede de colágeno. Dessa forma, esses elementos favoreceriam a mineralização da dentina subjacente, tornando as fibras colágenas menos suscetíveis à ação de MMPs. No entanto, é preciso ressaltar que os mecanismos exatos relacionados a esse processo ainda não estão esclarecidos.

Por outro lado, após 1 ano de armazenamento, todos os sistemas adesivos contendo partículas de vidro foram capazes de manter os valores de nanoinfiltração estáveis. Os mesmos mecanismos relacionados à manutenção da resistência de união, propiciada pelo emprego desses biomateriais, parecem ser responsáveis pelos baixos valores de nanoinfiltração observados. Esses resultados corroboram com os achados de RU deste trabalho e com outros estudos que demonstraram a diminuição da nanoinfiltração, após períodos prolongados de armazenamento, desses materiais [32,71].

Uma das características fundamentais para um material ser considerado bioativo é a capacidade de liberar íons que induzam a formação de precipitados minerais, frequentemente compostos de cálcio e fosfato [58]. Neste estudo, imagens em MEV de amostras de sistemas adesivos contendo 45S5, após 28

dias de imersão em SBF, exibiram a formação de precipitados de formato esférico, indicativos de bioatividade (Figuras 14B, 14C e 14D). A caracterização adicional desses precipitados, via FTIR-ATR e DRX, confirmaram a formação de carbonato de cálcio e hidroxiapatita sobre a superfície desses materiais (Figuras 15 e 17). Esses resultados estão de acordo com outros estudos que avaliaram a adição de partículas bioativas em materiais resinosos [9,16,32]. Dessa forma, estes achados demonstram a íntima relação entre o potencial de liberação iônica e a bioatividade desses materiais. Um outro fator a ser considerado é a alta reatividade química do vidro 45S5 em meio aquoso [22], que favoreceu o aumento do pH, a liberação de íons e a formação dos precipitados.

Por outro lado, para os adesivos contendo NbG, não foi possível observar a formação de precipitados em MEV e nem a presença de picos de precursores de hidroxiapatita nas amostras avaliadas (Figuras 14F, 14G, 14H, 16 e 18). Um estudo anterior, sobre a adição de partículas de NbG em sistemas adesivos, foi capaz de demonstrar a formação de precipitados de Ca^{2+} e PO_4^{3-} [13]. No entanto, este trabalho utilizou concentrações maiores de vidro (30%) e um sistema adesivo convencional simplificado, o que dificulta a comparação dos resultados.

Por fim, a adição de partículas de vidros bioativos em sistemas adesivos autocondicionantes se mostra uma estratégia promissora. Os achados encontrados neste estudo sugerem que em grande parte das condições avaliadas, a incorporação do vidro não gerou impacto negativo nas propriedades mecânicas do material e foi capaz de induzir bioatividade. Estes resultados suportam a investigação futura de outras propriedades relacionadas a aplicação de vidros bioativos em materiais restauradores e seu potencial como material restaurador bioativo.

5. Conclusão

A incorporação de micropartículas de vidros bioativos em sistemas adesivos autocondicionantes pode ser considerada uma técnica eficaz para a obtenção de interfaces adesivas mais duradouras. Neste trabalho, a utilização de adesivos funcionalizados com os vidros 45S5 e NbG, em concentrações de 5% a 20%, foram capazes de manter os valores de resistência de união e nanoinfiltração estáveis após um ano de armazenamento em meio aquoso.

A adição de 20% de 45SS promoveu a deposição de hidroxiapatita e carbonato de cálcio (bioatividade), elevou significativamente o pH do meio e liberou grandes quantidades de íons cálcio, com baixo impacto sobre as propriedades mecânicas dos sistemas adesivos. Já os adesivos contendo NbG, em concentrações de até 20%, não foram capazes de apresentar atividade bioativa. Por outro lado, a adição dessas partículas não teve impacto negativo sobre as propriedades mecânicas avaliadas.

Referências

- [1] Bedran-Russo A, Leme-Kraus AA, Vidal CMP, Teixeira EC. An Overview of Dental Adhesive Systems and the Dynamic Tooth–Adhesive Interface. *Dent Clin North Am* 2017;61:713–31. doi:10.1016/j.cden.2017.06.001.
- [2] Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, J. DM, K.L. VL, et al. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater* 2011;27:17–28. doi:10.1016/j.dental.2010.10.023.
- [3] Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, et al. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater* 2011;27:1–16. doi:10.1016/J.DENTAL.2010.10.016.
- [4] Balooch M, Habelitz S, Kinney JH, Marshall SJ, Marshall GW. Mechanical properties of mineralized collagen fibrils as influenced by demineralization. *J Struct Biol* 2008;162:404–10. doi:10.1016/j.jsb.2008.02.010.
- [5] Gou Y-P, Meghil MM, Pucci CR, Breschi L, Pashley DH, Cutler CW, et al. Optimizing resin-dentin bond stability using a bioactive adhesive with concomitant antibacterial properties and anti-proteolytic activities. *Acta Biomater* 2018;75:171–82. doi:10.1016/j.actbio.2018.06.008.
- [6] Ayar MK. A review of ethanol wet-bonding: Principles and techniques. *Eur J Dent* 2016;10:155–9. doi:10.4103/1305-7456.175687.
- [7] Hass V, Luque-Martinez IV, Gutierrez MF, Moreira CG, Gotti VB, Feitosa VP, et al. Collagen cross-linkers on dentin bonding: Stability of the adhesive interfaces, degree of conversion of the adhesive, cytotoxicity and in situ MMP inhibition. *Dent Mater* 2016;32:732–41. doi:10.1016/j.dental.2016.03.008.
- [8] Zheng P, Chen H. Evaluate the effect of different mmps inhibitors on adhesive physical properties of dental adhesives, bond strength and mmp substarte activity. *Sci Rep* 2017;7:4975. doi:10.1038/s41598-017-04340-1.
- [9] Rizk M, Hohlfeld L, Thanh LT, Biehl R, Lühmann N, Mohn D, et al. Bioactivity and properties of a dental adhesive functionalized with polyhedral oligomeric silsesquioxanes (POSS) and bioactive glass. *Dent Mater* 2017;33:1056–65. doi:10.1016/j.dental.2017.06.012.
- [10] Degrazia FW, Leitune VCB, Samuel SMW, Collares FM. Boron nitride nanotubes as novel fillers for improving the properties of dental adhesives. *J Dent* 2017;62:85–90. doi:10.1016/j.jdent.2017.05.013.
- [11] Xie X, Wang L, Xing D, Zhang K, Weir MD, Liu H, et al. Novel dental adhesive with triple benefits of calcium phosphate recharge, protein-repellent and antibacterial functions. *Dent Mater* 2017;33:553–63. doi:10.1016/j.dental.2017.03.002.
- [12] Fujimura Y, Weerasinghe D, Kawashima M. Development of an antibacterial bioactive dental adhesive: Simplicity and innovation. *Am J Dent* 2018;31:13B-16B.
- [13] Carneiro KK, Araujo TP, Carvalho EM, Meier MM, Tanaka A, Carvalho CN, et al. Bioactivity and properties of an adhesive system functionalized with an experimental niobium-based glass. *J Mech Behav Biomed Mater* 2018;78:188–95. doi:10.1016/J.JMBBM.2017.11.016.
- [14] Bauer J, Silva AS, Carvalho EM, Carvalho CN, Carvalho RM, Manso AP, et

- al. A niobophosphate bioactive glass suspension for rewetting dentin: Effect on antibacterial activity, pH and resin-dentin bonding durability. *Int J Adhes Adhes* 2018;84:178–83. doi:10.1016/J.IJADHADH.2018.03.004.
- [15] Al-Eesa NA, Wong FSL, Johal A, Hill RG. Fluoride containing bioactive glass composite for orthodontic adhesives - ion release properties. *Dent Mater* 2017;33:1324–9. doi:10.1016/j.dental.2017.08.185.
- [16] Tauböck TT, Zehnder M, Schweizer T, Stark WJ, Attin T, Mohn D. Functionalizing a dentin bonding resin to become bioactive. *Dent Mater* 2014;30:868–75. doi:10.1016/J.DENTAL.2014.05.029.
- [17] Bakry AS, Takahashi H, Otsuki M, Tagami J. Evaluation of new treatment for incipient enamel demineralization using 45S5 bioglass. *Dent Mater* 2014;30:314–20. doi:10.1016/j.dental.2013.12.002.
- [18] Bakry AS, Abbassy MA. The efficacy of a bioglass (45S5) paste temporary filling used to remineralize enamel surfaces prior to bonding procedures. *J Dent* 2019;85:33–8. doi:10.1016/j.jdent.2019.04.010.
- [19] Tezvergil-Mutluay A, Seseogullari-Dirihan R, Feitosa VPP, Cama G, Brauer DSS, Sauro S. Effects of Composites Containing Bioactive Glasses on Demineralized Dentin. *J Dent Res* 2017;96:999–1005. doi:10.1177/0022034517709464.
- [20] Kim Y-M, Kim D-H, Song CW, Yoon S-Y, Kim S-Y, Na HS, et al. Antibacterial and remineralization effects of orthodontic bonding agents containing bioactive glass. *Korean J Orthod* 2018;48:163–71. doi:10.4041/kjod.2018.48.3.163.
- [21] Bairo F. Bioactive glasses – When glass science and technology meet regenerative medicine. *Ceram Int* 2018;44:14953–66. doi:10.1016/J.CERAMINT.2018.05.180.
- [22] Jones JR. Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. *Acta Biomater* 2013;9:4457–86. doi:10.1016/J.ACTBIO.2012.08.023.
- [23] Ahmed I, Lewis M, Olsen I, Knowles JC. Phosphate glasses for tissue engineering: Part 1. Processing and characterisation of a ternary-based P2O5–CaO–Na2O glass system. *Biomaterials* 2004;25:491–9. doi:10.1016/S0142-9612(03)00546-5.
- [24] Par M, Tarle Z, Hickel R, Ilie N. Dentin bond strength of experimental composites containing bioactive glass: changes during aging for up to 1 year. *J Adhes Dent* 2018;20:325–34. doi:10.3290/j.jad.a40992.
- [25] Carvalho CN, Martinelli JR, Bauer J, Haapasalo M, Shen Y, Bradaschia-Correa V, et al. Micropush-out dentine bond strength of a new gutta-percha and niobium phosphate glass composite. *Int Endod J* 2015;48:451–9. doi:10.1111/iej.12334.
- [26] Altmann ASP, Collares FM, Balbinot G de S, Leitune VCB, Takimi AS, Samuel SMW. Niobium pentoxide phosphate invert glass as a mineralizing agent in an experimental orthodontic adhesive. *Angle Orthod* 2017;87:759–65. doi:10.2319/122417-140.1.
- [27] Lopes JH, Magalhães A, Mazali IO, Bertran CA. Effect of Niobium Oxide on the Structure and Properties of Melt-Derived Bioactive Glasses. *J Am Ceram Soc* 2014;97:3843–52. doi:10.1111/jace.13222.

- [28] Sene FF, Martinelli JR, Gomes L. Synthesis and characterization of niobium phosphate glasses containing barium and potassium. *J. Non. Cryst. Solids*, vol. 348, Elsevier; 2004, p. 30–7. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2004.08.122.
- [29] Godley R, Starosvetsky D, Gotman I. Bonelike apatite formation on niobium metal treated in aqueous NaOH. *J Mater Sci Mater Med* 2004;15:1073–7. doi:10.1023/B:JMSM.0000046388.07961.81.
- [30] Miyazaki T, Kim HM, Kokubo T, Ohtsuki C, Nakamura T. Apatite-forming ability of niobium oxide gels in a simulated body fluid. *J Ceram Soc Japan* 2001;109:929–33. doi:10.2109/jcersj.109.1275_929.
- [31] Profeta AC, Mannocci F, Foxton RM, Thompson I, Watson TF, Sauro S. Bioactive effects of a calcium/sodium phosphosilicate on the resin-dentine interface: a microtensile bond strength, scanning electron microscopy, and confocal microscopy study. *Eur J Oral Sci* 2012;120:353–62. doi:10.1111/j.1600-0722.2012.00974.x.
- [32] Profeta AC, Mannocci F, Foxton R, Watson TF, Feitosa VP, De Carlo B, et al. Experimental etch-and-rinse adhesives doped with bioactive calcium silicate-based micro-fillers to generate therapeutic resin–dentin interfaces. *Dent Mater* 2013;29:729–41. doi:10.1016/j.dental.2013.04.001.
- [33] Sauro S, Osorio R, Watson TF, Toledano M. Therapeutic effects of novel resin bonding systems containing bioactive glasses on mineral-depleted areas within the bonded-dentine interface. *J Mater Sci Mater Med* 2012;23:1521–32. doi:10.1007/s10856-012-4606-6.
- [34] Abuna G, Feitosa VP, Correr AB, Cama G, Giannini M, Sinhoreti MA, et al. Bonding performance of experimental bioactive/biomimetic self-etch adhesives doped with calcium-phosphate fillers and biomimetic analogs of phosphoproteins. *J Dent* 2016;52:79–86. doi:10.1016/j.jdent.2016.07.016.
- [35] Sfalcin RA, Correr AB, Morbidelli LR, Araújo TGF, Feitosa VP, Correr-Sobrinho L, et al. Influence of bioactive particles on the chemical-mechanical properties of experimental enamel resin infiltrants. *Clin Oral Investig* 2017;21:2143–51. doi:10.1007/s00784-016-2005-y.
- [36] Fernando D, Attik N, Pradelle-Plasse N, Jackson P, Grosogeat B, Colon P. Bioactive glass for dentin remineralization: A systematic review. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2017;76:1369–77. doi:10.1016/J.MSEC.2017.03.083.
- [37] Marovic D, Tarle Z, Hiller K-A, Müller R, Rosentritt M, Skrtic D, et al. Reinforcement of experimental composite materials based on amorphous calcium phosphate with inert fillers. *Dent Mater* 2014;30:1052–60. doi:10.1016/j.dental.2014.06.001.
- [38] Bauer J, Carvalho EM, Carvalho CN, Meier MM, Souza JP de, Carvalho RM de, et al. Development of a simplified etch-and-rinse adhesive containing niobiophosphate bioactive glass. *Int J Adhes Adhes* 2016;69:110–4. doi:10.1016/j.ijadhadh.2016.03.015.
- [39] Wambier L, Malaquias T, Wambier DS, Patzlaff RT, Bauer J, Loguercio AD, et al. Effects of prolonged light exposure times on water sorption, solubility and cross-linking density of simplified etch-and-rinse adhesives. *J Adhes Dent* 2014;16:229–34. doi:10.3290/j.jad.a32034.
- [40] Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M. Two modes of nanoleakage expression

- in single-step adhesives. *J Dent Res* 2002;81:472–6. doi:10.1177/154405910208100708.
- [41] Habib E, Wang R, Wang Y, Zhu M, Zhu XX. Inorganic Fillers for Dental Resin Composites: Present and Future. *ACS Biomater Sci Eng* 2016;2:1–11. doi:10.1021/acsbiomaterials.5b00401.
- [42] Ikejima I, Nomoto R, McCabe JF. Shear punch strength and flexural strength of model composites with varying filler volume fraction, particle size and silanation. *Dent Mater* 2003;19:206–11.
- [43] Beun S, Glorieux T, Devaux J, Vreven J, Leloup G. Characterization of nanofilled compared to universal and microfilled composites. *Dent Mater* 2007;23:51–9. doi:10.1016/j.dental.2005.12.003.
- [44] Belli R, Kreppel S, Petschelt A, Hornberger H, Boccaccini AR, Lohbauer U. Strengthening of dental adhesives via particle reinforcement. *J Mech Behav Biomed Mater* 2014;37:100–8. doi:10.1016/J.JMBBM.2014.05.007.
- [45] Amirouche-Korichi A, Mouzali M, Watts DC. Effects of monomer ratios and highly radiopaque fillers on degree of conversion and shrinkage-strain of dental resin composites. *Dent Mater* 2009;25:1411–8. doi:10.1016/j.dental.2009.06.009.
- [46] Harsch M, Karger-Kocsis J, Holst M. Influence of fillers and additives on the cure kinetics of an epoxy/anhydride resin. *Eur Polym J* 2007;43:1168–78. doi:10.1016/j.eurpolymj.2007.01.025.
- [47] Par M, Tarle Z, Hickel R, Ilie N. Polymerization kinetics of experimental bioactive composites containing bioactive glass. *J Dent* 2018;76:83–8. doi:10.1016/J.JDENT.2018.06.012.
- [48] Martins GC, Meier MM, Loguercio AD, Reis A, Gomes JC, Gomes OM. Effects of adding barium-borosilicate glass to a simplified etch-and-rinse adhesive on radiopacity and selected properties. *J Adhes Dent* 2014;16:107–14. doi:10.3290/j.jad.a30687.
- [49] Lohbauer U, Belli R, Ferracane JL. Factors Involved in Mechanical Fatigue Degradation of Dental Resin Composites. *J Dent Res* 2013;92:584–91. doi:10.1177/0022034513490734.
- [50] Sadat-Shojai M, Atai M, Nodehi A, Khanlar LN. Hydroxyapatite nanorods as novel fillers for improving the properties of dental adhesives: Synthesis and application. *Dent Mater* 2010;26:471–82. doi:10.1016/j.dental.2010.01.005.
- [51] Ferracane JL. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. *Dent Mater* 2006;22:211–22. doi:10.1016/j.dental.2005.05.005.
- [52] Ferracane JL, Berge HX, Condon JR. In vitro aging of dental composites in water? Effect of degree of conversion, filler volume, and filler/matrix coupling. *J Biomed Mater Res* 1998;42:465–72.
- [53] Cocco AR, Lima GS, Leal FB, Munchow EA, Ogliari FA, Piva E. Addition of nanoparticles for development of radiopaque dental adhesives. *Int J Adhes Adhes* 2018;80:122–7. doi:10.1016/j.ijadhadh.2017.10.009.
- [54] Carvalho E V, de Paula DM, Andrade Neto DM, Costa LS, Dias DF, Feitosa VP, et al. Radiopacity and mechanical properties of dental adhesives with strontium hydroxyapatite nanofillers. *J Mech Behav Biomed Mater*

- 2020;101:103447. doi:10.1016/j.jmbbm.2019.103447.
- [55] Lachowski KM, Botta SB, Lascala CA, Matos AB, Sobral MAP. Study of the radiopacity of base and liner dental materials using a digital radiography system. *Dentomaxillofacial Radiol* 2013;42. doi:10.1259/dmfr.20120153.
- [56] Leitune VCB, Collares FM, Takimi A, Lima GB de, Petzhold CL, Bergmann CP, et al. Niobium pentoxide as a novel filler for dental adhesive resin. *J Dent* 2013;41:106–13. doi:10.1016/j.jdent.2012.04.022.
- [57] Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res* 2004;83:216–21. doi:10.1177/154405910408300306.
- [58] Profeta AC. Preparation and properties of calcium-silicate filled resins for dental restoration. Part I: chemical-physical characterization and apatite-forming ability. *Acta Odontol Scand* 2014;72:597–606. doi:10.3109/00016357.2013.878808.
- [59] Lu X, Leng Y. Theoretical analysis of calcium phosphate precipitation in simulated body fluid. *Biomaterials* 2005;26:1097–108. doi:10.1016/j.biomaterials.2004.05.034.
- [60] Allan I, Newman H, Wilson M. Antibacterial activity of particulate Bioglass® against supra- and subgingival bacteria. *Biomaterials* 2001;22:1683–7. doi:10.1016/S0142-9612(00)00330-6.
- [61] Braga RR. Calcium phosphates as ion-releasing fillers in restorative resin-based materials. *Dent Mater* 2019;35:3–14. doi:10.1016/j.dental.2018.08.288.
- [62] Arsic J, Kaminski D, Poodt P, Vlieg E. Liquid ordering at the Brushite- $\{010\}$ -water interface. *Phys Rev B - Condens Matter Mater Phys* 2004;69:245406. doi:10.1103/PhysRevB.69.245406.
- [63] Carvalho CN, Wang Z, Shen Y, Gavini G, Martinelli JR, Manso A, et al. Comparative analyses of ion release, pH and multispecies biofilm formation between conventional and bioactive gutta-percha. *Int Endod J* 2016;49:1048–56. doi:10.1111/iej.12558.
- [64] Carvalho EM, Lima DM, Carvalho CN, Loguercio AD, Martinelli JR, Bauer J. Effect of airborne-particle abrasion on dentin with experimental niobophosphate bioactive glass on the microtensile bond strength of resin cements. *J Prosthodont Res* 2015;59:129–35. doi:10.1016/j.jpor.2015.01.001.
- [65] Bauer J, Silva e Silva A, Carvalho EM, Ferreira PVC, Carvalho CN, Manso AP, et al. Dentin pretreatment with 45S5 and niobophosphate bioactive glass: Effects on pH, antibacterial, mechanical properties of the interface and microtensile bond strength. *J Mech Behav Biomed Mater* 2019;90:374–80. doi:10.1016/j.jmbbm.2018.10.029.
- [66] De Munck J, Mine A, Poitevin A, Van Ende A, Cardoso MV, Van Landuyt KL, et al. Meta-analytical Review of Parameters Involved in Dentin Bonding. *J Dent Res* 2012;91:351–7. doi:10.1177/0022034511431251.
- [67] Liu Y, Tjäderhane L, Breschi L, Mazzoni A, Li N, Mao J, et al. Limitations in Bonding to Dentin and Experimental Strategies to Prevent Bond Degradation. *J Dent Res* 2011;90:953–68.

doi:10.1177/0022034510391799.

- [68] Sano H, Yoshikawa T, Pereira PNR, Kanemura N, Morigamui M, Tagami J, et al. Long-term Durability of Dentin Bonds Made with a Self-etching Primer, in vivo. *J Dent Res* 1999;78:906–11. doi:10.1177/00220345990780041101.
- [69] Makowski GS, Ramsby ML. Differential effect of calcium phosphate and calcium pyrophosphate on binding of matrix metalloproteinases to fibrin: comparison to a fibrin-binding protease from inflammatory joint fluids. *Clin Exp Immunol* 2004;136:176–87. doi:10.1111/j.1365-2249.2004.02413.x.
- [70] Gutiérrez MF, Alegría-Acevedo LF, Méndez-Bauer L, Bermudez J, Dávila-Sánchez A, Buvinic S, et al. Biological, mechanical and adhesive properties of universal adhesives containing zinc and copper nanoparticles. *J Dent* 2019;82:45–55. doi:10.1016/j.jdent.2019.01.012.
- [71] Profeta AC. Preparation and properties of calcium-silicate filled resins for dental restoration. Part II: Micro-mechanical behaviour to primed mineral-depleted dentine. *Acta Odontol Scand* 2014;72:607–17. doi:10.3109/00016357.2014.880188.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento de materiais odontológicos capazes de responder a estímulos externos de forma específica e controlada (*smart materials*) é um assunto de grande relevância nos dias atuais. Na odontologia restauradora, o emprego de materiais que possam não somente devolver a forma e função dos tecidos dentais, mas também serem capazes de prolongar a vida útil das restaurações, é altamente desejável.

Dentro desse contexto, este estudo desenvolveu e avaliou propriedades físico-químicas, mecânicas e biológicas de sistemas adesivos experimentais contendo micropartículas de dois vidros bioativos. Através dos achados encontrados nesta investigação, foi possível constatar que a utilização destes biomateriais representa uma estratégia válida na criação de interfaces mais duradouras, com baixo impacto sobre as propriedades mecânicas do material. No entanto, apesar dos resultados promissores, novas investigações *in vitro* e *in vivo* devem ser realizadas acerca do impacto da utilização dos vidros bioativos em sistemas adesivos autocondicionantes, tanto do ponto de vista da influência sobre outras propriedades desses materiais quanto do seu desempenho clínico.

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, A. I.; FEILZER, A. J. Four-year water degradation of a total-etch and two self-etching adhesives bonded to dentin. **Journal of Dentistry**, v. 36, n. 8, p. 611–617, 2008.
- AL-EESA, N. A. et al. Fluoride containing bioactive glass composite for orthodontic adhesives - ion release properties. **Dental Materials**, v. 33, n. 11, p. 1324–1329, 2017.
- ALTOMARE, L. et al. Microstructure and in vitro behaviour of 45S5 bioglass coatings deposited by high velocity suspension flame spraying (HVSFS). **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 22, n. 5, p. 1303–1319, 2011.
- AYAR, M. K. A review of ethanol wet-bonding: Principles and techniques. **European Journal of Dentistry**, v. 10, n. 1, p. 155–159, 2016.
- BAINO, F. Bioactive glasses – When glass science and technology meet regenerative medicine. **Ceramics International**, v. 44, n. 13, p. 14953–14966, 2018.
- BAKRY, A. S. et al. Evaluation of new treatment for incipient enamel demineralization using 45S5 bioglass. **Dental Materials**, v. 30, n. 3, p. 314–320, 2014.
- BAKRY, A. S.; ABBASSY, M. A. The efficacy of a bioglass (45S5) paste temporary filling used to remineralize enamel surfaces prior to bonding procedures. **Journal of Dentistry**, v. 85, p. 33–38, 2019.
- BAUER, J. et al. Development of a simplified etch-and-rinse adhesive containing niobophosphate bioactive glass. **International Journal of Adhesion and Adhesives**, v. 69, p. 110–114, 2016.
- BEDRAN-RUSSO, A. et al. An Overview of Dental Adhesive Systems and the Dynamic Tooth–Adhesive Interface. **Dental Clinics of North America**, v. 61, p. 713–731, 2016.
- BOURBIA, M. et al. Cariogenic bacteria degrade dental resin composites and adhesives. **Journal of Dental Research**, v. 92, n. 11, p. 989–994, 2013.
- CARNEIRO, K. K. et al. Adhesives Doped with Bioactive Niobophosphate Micro-Filler: Degree of Conversion and Microtensile Bond Strength. **Brazilian Dental Journal**, v. 27, n. 6, p. 705–711, 2016.
- CARVALHO, C. N. et al. Micropush-out dentine bond strength of a new gutta-percha and niobium phosphate glass composite. **International Endodontic Journal**, v. 48, n. 5, p. 451–459, 2015.
- CHEN, C. et al. Bonding of universal adhesives to dentine - Old wine in new bottles? **Journal of Dentistry**, v. 43, n. 5, p. 525–536, 2015.

ELTAHLAH, D. et al. An update on the reasons for placement and replacement of direct restorations. **Journal of Dentistry**, v. 72, p. 1-7, 2018.

FERNANDO, D. et al. Bioactive glass for dentin remineralization: A systematic review. **Materials Science and Engineering C: Materials for Biological Applications**, v. 76, p. 1369–1377, 2017.

FERRACANE, J. L. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. **Dental Materials**, v. 22, n. 3, p. 211–222, 2006.

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. e41–e53, 2016.

FUJIMURA, Y.; WEERASINGHE, D.; KAWASHIMA, M. Development of an antibacterial bioactive dental adhesive: Simplicity and innovation. **American Journal of Dentistry**, v. 31, n. Sp Is B, p. 13B-16B, 2018.

GENDRON, R. et al. Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 6, n. 3, p. 437–439, 1999.

GILLAM, D. G. et al. The effects of a novel Bioglass® dentifrice on dentine sensitivity: A scanning electron microscopy investigation. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 29, n. 4, p. 305–313, 2002.

GODLEY, R.; STAROSVETSKY, D.; GOTMAN, I. Bonelike apatite formation on niobium metal treated in aqueous NaOH. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 15, n. 10, p. 1073–1077, 2004.

HASHIMOTO, M. et al. In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. **Biomaterials**, v. 24, n. 21, p. 3795–3803, 2003.

HENCH, L. L. Bioactive Ceramics. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 523, n. 1, p. 54–71, 1988.

HENCH, L. L. The story of Bioglass®. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 17, n. 11, p. 967–978, 2006.

JONES, J. R. Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 1, p. 4457–4486, 2013.

KIM, Y.-M. et al. Antibacterial and remineralization effects of orthodontic bonding agents containing bioactive glass. **Korean Journal of orthodontics**, v. 48, n. 3, p. 163–171, 2018.

KNOWLES, J. C. Phosphate based glasses for biomedical applications. **Journal of Materials Chemistry**, v. 13, n. 10, p. 2395–2401, 2003.

LEAL, A. et al. Airborne-particle abrasion with niobium phosphate bioactive glass on caries-affected dentin: effect on the microtensile bond strength. **Journal of Adhesion Science and Technology**, v. 31, n. 22, p. 2410–2423, 2017.

LEITUNE, V. C. B. et al. Niobium pentoxide as a new filler for methacrylate-based root canal sealers. **International Endodontic journal**, v. 46, n. 3, p. 205–210, 2013.

LI, Y. et al. Bonding durability, antibacterial activity and biofilm pH of novel adhesive containing antibacterial monomer and nanoparticles of amorphous calcium phosphate. **Journal of Dentistry**, v. 81, p. 91–101, 2019.

LOPES, J. H. et al. Effect of Niobium Oxide on the Structure and Properties of Melt-Derived Bioactive Glasses. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 97, n. 12, p. 3843–3852, 2014.

MAROVIC, D. et al. Reinforcement of experimental composite materials based on amorphous calcium phosphate with inert fillers. **Dental materials**, v. 30, n. 9, p. 1052–1060, 2014.

MIYAZAKI, T. et al. Apatite-forming ability of niobium oxide gels in a simulated body fluid. **Journal of the Ceramic Society of Japan**, v. 109, n. 1275, p. 929–933, 2001.

NAKAYAMA, Y. et al. Comparative Study on Adhesive Performance of Functional Monomers. **Journal of Dental Research**, v. 83, n. 6, p. 454–458, 2004.

PALOTIE, U.; VEHKALAHTI, M. M. Reasons for replacement of restorations: dentists' perceptions. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 70, n. 6, p. 485–490, 2012.

PAR, M. et al. Dentin bond strength of experimental composites containing bioactive glass: changes during aging for up to 1 year. **The Journal of Adhesive Dentistry**, v. 20, n. 4, p. 325–334, 2018.

PASHLEY, D. H. et al. Permeability of dentin to adhesive agents. **Quintessence International**, v. 24, n. 9, p. 618–31, 1993.

PASHLEY, D. H. et al. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. **Journal of Dental Research**, v. 83, n. 3, p. 216–221, 2004.

PASHLEY, D. H. et al. From dry bonding to water-wet bonding to ethanol-wet bonding. A review of the interactions between dentin matrix and solvated resins using a macromodel of the hybrid layer. **American Journal of Dentistry**, v. 20, n. 1, p. 7–20, 2007.

PASHLEY, D. H. et al. State of the art etch-and-rinse adhesives. **Dental Materials**, v.

27, n. 1, p. 1–16, 2011.

PEUMANS, M. et al. Thirteen-year randomized controlled clinical trial of a two-step self-etch adhesive in non-cariou cervical lesions. **Dental Materials**, v. 31, n. 3, p. 308–314, 2015.

PROFETA, A. C. et al. Experimental etch-and-rinse adhesives doped with bioactive calcium silicate-based micro-fillers to generate therapeutic resin–dentin interfaces. **Dental Materials**, v. 29, n. 7, p. 729–741, 2013.

SAURO, S. et al. Therapeutic effects of novel resin bonding systems containing bioactive glasses on mineral-depleted areas within the bonded-dentine interface. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 23, n. 6, p. 1521–1532, 2012.

SENE, F. F.; MARTINELLI, J. R.; GOMES, L. Synthesis and characterization of niobium phosphate glasses containing barium and potassium. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 348, p. 30–37, 2004.

SPENCER, P. et al. Adhesive/dentin interface: the weak link in the composite restoration. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 38, n. 6, p. 1989–2003, 2010.

SPENCER, P.; WANG, Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 62, n. 3, p. 447–456, 2002.

TAUBÖCK, T. T. et al. Functionalizing a dentin bonding resin to become bioactive. **Dental Materials**, v. 30, n. 8, p. 868–875, 2014.

TAY, F. R. et al. Bonding BisGMA to dentin--a proof of concept for hydrophobic dentin bonding. **Journal of Dental Research**, v. 86, n. 11, p. 1034–1039, 2007.

TEZVERGIL-MUTLUAY, A. et al. Effects of Composites Containing Bioactive Glasses on Demineralized Dentin. **Journal of Dental Research**, v. 96, n. 9, p. 999–1005, 2017.

VALANEZHAD, A. et al. Modification of resin modified glass ionomer cement by addition of bioactive glass nanoparticles. **Journal of Materials Science Materials in Medicine**, v. 27, n. 1, p. 3, 2016.

VAN LANDUYT, K. L. et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. **Biomaterials**, v. 28, n. 26, p. 3757–85, 2007.

WILLIAMS, D. F. On the mechanisms of biocompatibility. **Biomaterials**, v. 29, n. 20, p. 2941–2953, 2008.

ZHENG, P.; CHEN, H. Evaluate the effect of different mmps inhibitors on adhesive physical properties of dental adhesives, bond strength and mmp substarte activity. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 4975, 2017.

ANEXO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO/MA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ADIÇÃO DE NANOPARTÍCULAS NO DESEMPENHO DE ADESIVOS DENTINÁRIOS

Pesquisador: Jose Roberto de Oliveira Bauer

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 33312914.7.0000.5087

Instituição Proponente: CENTRO DE PESQUISA CLINICA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 935.121

Data da Relatoria: 25/11/2014

Apresentação do Projeto:

Projeto associado à dissertação de mestrado, onde na metodologia menciona que "trinta e cinco terceiros molares humanos recém-extraídos e hígidos serão utilizados neste estudo, de acordo com protocolo enviado para apreciação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Maranhão. Os dentes serão armazenados em solução de timol a 0,1% para desinfecção e posteriormente em água destilada até o momento de sua utilização."

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO GERAL: Desenvolver um sistema adesivo autocondicionante contendo dois biovidros.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS: a) Avaliar as propriedades mecânicas intrínsecas dos adesivos experimentais quanto ao grau de conversão, radiopacidade, resistência coesiva e microdureza; b) Avaliar in vitro a resistência de união dos adesivos experimentais à dentina imediatamente (24 horas) e ao longo do tempo (3 meses); c) Analisar o comportamento da camada de união e o padrão de fratura através de estereomicroscópio e Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos do uso de elementos dentais extraídos podem estar relacionados com incorreto armazenamento e possível contaminação, o que será feito conforme a literatura em frascos contendo Timol a 0,1%, devidamente vedados.

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho
Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética **CEP:** 65.080-040
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)3272-8708 **Fax:** (98)3272-8708 **E-mail:** cepufma@ufma.br

Continuação do Parecer: 935.121

Benefícios:

Aprimorar técnicas de adesão dentinárias e de restauração por meio do aumento da longevidade das mesmas. Melhorar a qualidade e a longevidade das restaurações resinosas utilizadas em pacientes que necessitarem deste tipo de tratamento.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Os comentários sobre a pesquisa foram acatados e corrigidos pelo pesquisador.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

As considerações feitas sobre os termos de apresentação obrigatórias foram acatados e corrigidos pelo pesquisador.

Recomendações:

Todas as recomendações foram acatadas e corrigidas pelo pesquisador.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências foram acatadas e corrigidas pelo pesquisador e estão de acordo com a resolução 466/12 do CNS.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

SAO LUIS, 20 de Janeiro de 2015

Assinado por:
FRANCISCO NAVARRO
(Coordenador)

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho

Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética **CEP:** 65.080-040

UF: MA **Município:** SAO LUIS

Telefone: (98)3272-8708 **Fax:** (98)3272-8708 **E-mail:** cepufma@ufma.br