LIVIA CAMARGO NATALE

**Desenvolvimento de nanopartículas de fosfato de cálcio funcionalizadas para
aplicação em compósitos resinosos de uso odontológico**

São Paulo
2018

LIVIA CAMARGO NATALE

**Desenvolvimento de partículas de fosfato de cálcio funcionalizadas para
aplicação em compósitos resinosos de uso odontológico**

Versão Original

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia para obter o título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Biomateriais
Orientador: Prof. Dr. Roberto Ruggiero Braga

São Paulo
2018

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

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Natale, Livia Camargo.

Desenvolvimento de nanopartículas de fosfato de cálcio funcionalizadas para aplicação em compósitos resinosos de uso odontológico / Livia Camargo Natale ; orientador Roberto Ruggiero Braga. -- São Paulo, 2018.

103p. : fig., tab.; 30 cm.

Tese (Doutorado) -- Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Biomateriais e Biologia oral. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão original

1. Nanopartículas. 2. Materiais dentários. 3. Resinas compostas. 4. Remineralização dentária. I. Braga, Roberto Ruggiero. II. Título.

Natale LC. Desenvolvimento de partículas de fosfato de cálcio funcionalizadas para aplicação em compósitos resinosos de uso odontológico. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovado em: / /2018

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Dedico este trabalho a minha família, que continuou dando apoio e incentivo à todas as minhas escolhas e por me transmitirem os valores de responsabilidade, dedicação e persistência.

AGRADECIMENTOS

*Agradeço muito aos meus pais, **Nilce Camargo Natale** e **Nivaldo Natale**, por estarem sempre tão perto, mesmo que eu esteja longe. Obrigada pelo amor, pelo respeito e pela admiração.*

*Ao meu irmão, **Felipe Natale**, agradeço muito pela demonstração de carinho, amizade e apoio durante todo o meu processo na pós-graduação.*

*Agradeço com carinho, ao meu namorado **Gabriel Gerardi**, por sempre me apoiar, incentivar e compreender os momentos de distância durante o mestrado e doutorado.*

*Às amigas **Marcela Rodrigues**, **Mariel Maas**, **Marina Chiari** e **Yvette Alania**, agradeço imensamente por tê-las conhecido. Vocês foram sem dúvida nenhuma o maior exemplo de parceria e dedicação tanto na amizade que desenvolvemos como nas nossas atividades no departamento.*

*Às alunas de iniciação científica **Handy** e **Mirella Corrêa** agradeço o ótimo convívio e as trocas de experiências.*

*Agradeço aos colegas da pós graduação: **Alexander Nishida**, **Ana Carolina Freitas**, **Ana Carolina Romero**, **Bernar Benites**, **Bruno Lopes**, **Carina Tanaka**, **Cintia Fukuoka**, **Ezequias Rodrigues**, **Fabricia Araujo**, **Flávia Ibuki**, **Flávio Umeda**, **Juliana Castro**, **Karen Fukushima**, **Kelli Monteiro**, **Lucas Pabis**, **Lucas Hian**, **Mariana Reis**, **Marina Roscoe**, **Pedro Albuquerque**, **Ranulfo Miranda**,*

Stéphanie Favero, Susana Salazar e Vivian Bradaschia. Apesar do pouco convívio, compartilhamos palavras de amizade e apoio.

Ao meu orientador Prof. Dr. Roberto Ruggiero Braga, obrigada por compartilhar toda sua experiência e por participar de cada passo desse projeto com muito critério. Agradeço imensamente a oportunidade de ter trabalhado ao lado de um profissional extremamente dedicado e que contribuiu muito para minha formação.

Agradeço a todos os professores do departamento pelo convívio respeitoso: Prof. Dr. Antônio Muench, Prof. Dr. Carlos Eduardo Francci, Prof. Dr. Leonardo Elloy Rodrigues Filho e Profa. Dra. Rosa Helena Miranda Grande. Agradeço de forma especial aos professores Profa Dra. Alyne Simões Gonçalves, Prof. Dr. Fernando Neves Nogueira, Prof. Dr. Igor Studart Medeiros, Profa Dra. Josete Barbosa Cruz Meira, Prof. Dr. Paulo Eduardo Capel Cardoso, Prof. Dr. Paulo Francisco César, Prof. Dr. Rafael Yague Ballester, Prof. Dr. Victor Elias Arana-Chavez e Prof. Dr. Walter Gomes Miranda Junior. Muito obrigada pelos ótimos momentos de convívio e pelo aprendizado teórico e prático ao longo das disciplinas da pós-graduação e estágio PAE.

Agradeço ao Prof. Dr. Flávio Vichi do Instituto de Química da USP, por participar do desenvolvimento deste trabalho através das análises realizadas pelos equipamentos do seu laboratório, por nos transmitir seus conhecimentos de química ao longo de alguns encontros e por compartilhar suas ideias durante a minha qualificação.

Agradeço às secretárias Rosa Cristina Nogueira e Elidamar Guimarães, por sempre serem solícitas e pelo ótimo convívio ao longo do doutorado.

Agradeço muito aos técnicos do departamento Antônio Carlos Lascala e Douglas Nesadal, sem dúvida nenhuma, a ajuda de vocês com muitos dos equipamentos do laboratório foi imprescindível para o desenvolvimento do meu projeto.

Ao Departamento de Biomateriais e Biologia Oral, agradeço pela oportunidade e pela contribuição técnica, que ofereceu todas as condições para a realização da pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), agradeço ao apoio financeiro, sem à qual não seria possível continuar este projeto de pesquisa.

RESUMO

Natale LC. Desenvolvimento de partículas de fosfato de cálcio funcionalizadas para aplicação em compósitos resinosos de uso odontológico [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2018. Versão Original.

O objetivo deste trabalho foi sintetizar partículas de fosfato dicálcico dihidratado (DCPD) funcionalizadas com derivados do dimetacrilato de etileno glicol (EGDMA, DEGDMA, TEGDMA e TETDMA) com o propósito de se obter partículas com baixa aglomeração e aplica-las no desenvolvimento de compósitos resinosos bioativos com propriedades mecânicas compatíveis com suas potenciais indicações clínicas. Métodos: Na **Fase 1**, partículas funcionalizadas de DCPD foram sintetizadas e caracterizadas com relação à presença do monômero funcionalizante, área superficial, tamanho e morfologia. Na **Fase 2**, as partículas apresentando as características desejáveis de tamanho e funcionalização foram incorporadas a uma matriz resinosa e os materiais resultantes foram avaliados quanto ao grau de conversão, propriedades mecânicas, liberação de íons e microestrutura. Finalmente, na **Fase 3**, as partículas que apresentaram os melhores resultados na fase anterior foram testadas em formulações incluindo partículas de vidro de bário silanizados segundo os mesmos métodos empregados na Fase 2 e, adicionalmente, tenacidade à fratura e contração volumétrica pós-gel. Os dados foram avaliados através de ANOVA/Tukey ou Kruskal-Wallis/Dunn, dependendo das condições de normalidade e homocedasticidade. Resultados: para a **fase 1**, a composição das partículas foi confirmada pelo DRX. A retenção do monômero foi inversamente proporcional ao tamanho do grupo espaçador, sendo as partículas sintetizadas com DEGDMA as com maior índice de retenção. De modo geral, teores mais elevados de monômeros nas partículas estiveram associados a maiores valores de área superficial. A funcionalização não reduziu a aglomeração. Para a **fase 2**, o material com 30 vol% de DCPD funcionalizado com DEGDMA 2:1 apresentou resistência à flexão 39% maior do que o DCPD não funcionalizado. O módulo flexural dos materiais contendo DCPD funcionalizado foi 19% - 26% menor do que o material contendo DCPD não funcionalizado. A liberação de íons não foi afetada pela funcionalização, mantendo-se estável durante o período de 28 dias. Para a **fase 3**, materiais com partículas contendo níveis mais altos de funcionalizante apresentaram contração volumétrica maior. A

resistência à flexão foi negativamente afetada pela substituição de 15 vol% de partículas de reforço por DCPD, independentemente da funcionalização. O módulo flexural apresentou valores estatisticamente semelhantes após 24 horas, para todos os compósitos experimentais. Após 60 dias, os materiais contendo DEGDMA 1:1 e TEGDMA 1:1 apresentaram valores inferiores aos demais materiais. Compósitos contendo DCPD apresentaram valores de tenacidade à fratura semelhantes ou superiores ao controle (sem DCPD). Não foram observadas diferenças nas concentrações iônicas liberadas pelos compósitos ao longo do experimento. Após 60 dias, a concentração de cálcio foi cerca de 60% da concentração liberada após 15 dias de imersão. Conclusão: Para as fases 1 e 2, o DEGDMA resultou nos mais altos níveis de funcionalização e maior resistência à flexão biaxial entre os materiais contendo DCPD. A liberação de íons não foi afetada pela funcionalização. Para a fase 3, o DEGDMA foi o único material com resistência semelhante ao controle após 60 dias, porém com maior contração. A presença de DCPD melhorou a tenacidade à fratura, independente da funcionalização e ao funcionalizar o DCPD a liberação de íons diminuiu nos primeiros 15 dias.

Palavras-chave: Fosfato de Cálcio. Nanopartículas. Materiais dentários. Dimetacrilato Etileno.

ABSTRACT

Natale LC. Development of functionalized calcium phosphate nanoparticle for application in resin composites for dental use [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2018. Versão Original.

The aim of this study was to synthesize dicalcium phosphate dihydrate (DCPD) particles functionalized with ethylene glycol dimethacrylate derivatives (EGDMA, DEGDMA, TEGDMA e TETDMA) with the purpose of reducing the particle agglomeration and apply them in the development of resinous composites with mechanical properties compatible with their potential clinical indications. Methods: In Phase 1, functionalized DCPD particles were synthesized and characterized with respect to the presence of the functionalizing monomer, surface area, size and morphology. In Phase 2, the particles having the desired size and functionalization characteristics were incorporated into a resin matrix and the resulting materials were evaluated for the degree of conversion, mechanical properties, ion release and microstructure. Finally, in Phase 3, the particles that showed the best results in the previous phase were tested in formulations including silanized barium glass particles according to the same methods employed in Step 2 and, additionally, post-gel volumetric fracture toughness and contraction. The data were evaluated through ANOVA / Tukey or Kruskal-Wallis / Dunn, depending on the conditions of normality and homoscedasticity. Results: for phase 1, the composition of the particles was confirmed by DRX. The retention of the monomer was inversely proportional to the size of the spacer group, and the particles synthesized with DEGDMA were the ones with the highest retention index. In general, higher monomer content in the particles was associated with higher surface area values. Functionalization didn't reduce agglomeration. For phase 2, the 30 vol% DCPD material functionalized with DEGDMA 2: 1 showed flexural strength 39% higher than non-functionalized DCPD. The flexural modulus of the functionalized DCPD containing materials was 19% - 26% less than the non-functionalized DCPD containing material. The release of ions was not affected by the functionalization, remaining stable during the period of 28 days. For phase 3, materials with particles containing higher levels of functionalizer presented greater volumetric contraction. The flexural strength was negatively affected by the substitution of 15 vol% of reinforcing particles by DCPD, regardless of functionalization. The flexural modulus presented statistically similar values after 24 hours for all

experimental composites. After 60 days, the materials containing DEGDMA 1: 1 and TEGDMA 1: 1 presented lower values than the other materials. Composites containing DCPD showed fracture toughness values similar to or higher than the control (without DCPD). No differences were observed in the ionic concentrations released by the composites throughout the experiment. After 60 days, the calcium concentration was about 60% of the concentration released after 15 days of immersion. Conclusion: For phases 1 and 2, DEGDMA resulted in higher functionalisation levels and higher biaxial flexural strength among DCPD containing materials. The release of ions was not affected by the functionalization. For phase 3, DEGDMA was the only material with similar resistance to control after 60 days, but with greater contraction. The presence of DCPD improved the fracture toughness, independent of the functionalization and the functionalization of the DCPD, the ion liberation decreased in the first 15 days.

Keywords: Calcium phosphate. Nanoparticles. Dental Materials. Glycol Dimemethacrylate.

LISTA DE FIGURA

- Figura 5.1 - Fórmula estrutural do dimetacrilato etileno glicol, com “n” representando o número de unidades de moléculas de etileno glicol. n=1, dimetacrilato etileno glicol (EGDMA, 198,22 g/mol); n=2, dimetacrilato dietileno glicol (DEGDMA, 242,27 g/mol); n=3, dimetacrilato trietileno glicol (TEGDMA, 286,32 g/mol) e n=4, dimetacrilato tetraetileno glicol (TETDMA, 330,37 g/mol).54
- Figura 5.2 - Difrátogramas das partículas de fosfato de cálcio obtidas com a adição de diferentes monômeros de dimetacrilato etileno glicol à solução de fosfato de amônio. À esquerda: proporção molar de monômero para o fosfato de amônio de 1:1, direita: razão molar de 2:1.58
- Figura 5.3 - Exemplo de imagens de microscopia eletrônica de transmissão mostrando aglomerados de nanopartículas em formato de placa obtidos em diferentes condições de síntese. A) DEGDMA 1:1, B) TETDMA 1:1, C) TEGDMA 2:1 e D) partículas não-funcionalizadas.59
- Figura 5.4 - Exemplo de imagens de microscopia eletrônica de varredura obtidas em diferentes condições de síntese. A) DEGDMA 1:1, B) TEGDMA 1:1, C) TETDMA 1:1 e D) Partículas não-funcionalizadas.....60
- Figura 5.5 - Médias e desvios-padrão da resistência à flexão biaxial (esquerda) e módulo flexural (à direita) de matérias à base de resina contendo 30% em volume de partículas de DCPD funcionalizadas com diferentes derivados do etileno glicol. A matriz resinosa contendo partículas não-funcionalizadas foram usadas como controle. Os valores acompanhados da mesma letra não são estatisticamente diferentes (testes de Kruskal-Wallis/Dunn, $p>0,05$).62
- Figura 5.6 - Representações esquemáticas de um aglomerado de DCPD não-funcionalizado e um aglomerado de DCPD funcionalizado com DEGDMA. A menor densidade e a maior área superficial das nanopartículas sugerem uma estrutura menos compacta para as últimas.67
- Figura 6.1 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície de fratura dos espécimes fraturas na resistência à flexão biaxial. A: controle armazenamento de 60 dias; B: DCPD não-funcionalizado, armazenamento de 24 horas; C: DCPD funcionalizado com DEGDMA, armazenamento de 24 horas; D: DCPD funcionalizado com DEGDMA, armazenamento de 60 dias.....78

LISTA DE TABELA

Tabela 4.1. Composição de compósito autoadesivos comercialmente disponíveis ..	37
Tabela 4.2. Estudos de resistência à união	37
Tabela 5.1 - Caracterização das partículas sintetizadas no estudo	57
Tabela 5.2 - Médias e desvios-padrão do grau de conversão (%). Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi detectada entre os materiais (ANOVA de um fator, $p>0,05$).	61
Tabela 5.3 - Médias e desvios-padrão para as concentrações de Ca^{2+} e HPO_4^{2-} (em ppm) liberadas por materiais contendo 30% em volume de DCPD em função da funcionalização e do período de imersão. As proporções seguintes aos nomes dos monômeros referem-se à razão “monômero:fosfato de amônio” utilizadas na síntese. Não foram detectadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos para a liberação de cálcio (Ca^{2+}) ($p>0,05$). Para o hidrogeno fosfato (HPO_4^{2-}), letras minúsculas semelhantes indicam ausência de diferença estatisticamente significativas dentro da mesma coluna, e letras maiúsculas, dentro da mesma linha (Kruskal-Wallis/Dunn, $p<0,05$).	61
Tabela 6.1 - Caracterização das partículas de fosfato di-cálcico di-hidratado	77
Tabela 6.2 - Médias e desvios-padrão para grau de conversão (%) e contração pós-gel (%) em compósitos experimentais em função da presença/tipo de partículas de DCPD. Valores seguidos da mesma letra não são estatisticamente diferentes (ANOVA de um fator/teste de Tukey, $p>0,05$).	77
Tabela 6.3 - Médias e desvios-padrão para resistência à flexão biaxial (MPa) e módulo flexural (GPa) de compósitos experimentais em função da presença/tipo de partículas de DCPD e tempo de armazenamento. Os valores seguidos de mesma letra não são estatisticamente diferentes (letras maiúsculas: colunas, letras minúsculas: linhas, ANOVA de dois fatores/Tukey, $p>0,05$).	78

Tabela 6.4 - Tenacidade à fratura (K_{1c}) de compósitos experimentais (média e desvios-padrão, em MPa.M^{0,5}) em função da presença/tipo de partículas de DCPD e tempo de armazenamento. Valores seguidos pela mesma letra não são estatisticamente diferentes (letras maiúsculas: colunas, letras minúsculas: linhas, ANOVA de dois fatores/Tukey, $p>0,05$).79

Tabela 6.5 - Médias e desvios-padrão para a liberação de cálcio (em partes por milhão) de compósitos experimentais em função do tipo de DCPD e tempo de armazenamento. Valores seguidos pelas mesmas letras não são estatisticamente diferentes (letras maiúsculas: colunas, letras minúsculas: linhas, ANOVA de dois fatores, Tukey, $p>0,05$).79

Tabela 6.6 - Médias e desvios-padrão para a liberação de fosfato (em partes por milhão) de compósitos experimentais em função do tipo de DCPD e tempo de armazenamento. Valores seguidos pelas mesmas letras não são estatisticamente diferentes (letras maiúsculas: colunas, letras minúsculas: linhas, ANOVA de dois fatores, Tukey, $p>0,05$).79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLA

°	Graus
ACP	Fosfato de cálcio amorfo
Ag ⁰	Prata metálica
Ag ⁺	Íons prata
ATR	Reflectância total atenuada
ART	Tratamento restaurador atraumático
BAG	Partículas de vidro bioativas
BET	Método Brunauer, Emmett, Teller
BisGMA	Metacrilato de glicidila bisfenol A
RFB	Resistência à flexão biaxial
BMEP	Metacrilato fosfato de etila
BPO	Peróxido de benzoíla
CaP	Fosfato de cálcio
Ca ⁺²	Íons cálcio
CHX	Clorexidina
cm	Centímetro
GC	Grau de conversão
DCPA	Fosfato dicálcico anidro
DCPD	Fosfato dicálcico dihidratado
DEGDMA	Dietileno glicol dimetacrilato
DHEPT	N,N-dihidroxietil-p-toluidina
DLS	Espalhamento dinâmico de luz
DMAHDM	Metacrilato de dimetilaminohexadecil
DRX	Difração de raios-X
EGDMA	Etileno glicol dimetacrilato
EG	Etileno glicol
FTIR	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier
FU	Formaldeído de uréia
FWHM	Largura à meia altura
GPDM	Dimetacrilato de glicerol fosfato
g/mol	Gramas dividido por milimol

HA	Hidroxiapatita
HEMA	Hidroxietil metacrilato
HPO_4^{2-}	Íons hidrogeno fosfato
J/cm^2	Joule dividido por centímetro ao quadrado
K_{Ic}	Tenacidade à fratura
kV	Quilovolts
mA	Miliampère
MDPB	Brometo 12-metacriloiloxi dodecilpiridínio
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
min	Minutos
Mg^{2+}	Íons magnésio
mm	milímetro
mm/min	Milímetro dividido por minuto
mmol/L	Milimol dividido por litro
$\text{MPa.m}^{0,5}$	Megapascal por milímetro ao quadrado
MPC	2-metacriloiloxietilfosforilcolina
MSNs	Mesoporosa
nm	Nanômetro
N	Newton
pH	Potencial de hidrogênio
PMMA	Polimetil metacrilato
PU	Poliuretano
QAM	Quartenário de amônio
QPEI	Nanopartículas de polietilenoimina
r	Raio
RA	Razão entre o comprimento e o diâmetro
s	Segundos
SACs	Compósitos restauradores auto-adesivos
Semi-IPN	Polímero semi-interpenetrante
S. mutans	Streptococcus mutans
TEGDMA	Dimetacrilato de trietileno glicol
TETDMA	Tetraetileno glicol dimetacrilato
TTCP	Fosfato tetracálcico
UDMA	Uretano dimetacrilato

v	constante
Zn^{2+}	Íons zinco
μm	Micrômetro
ΔZ	Diferença de perda de mineral
θ	Teta

SUMÁRIO

1	PREFÁCIO	25
2	INTRODUÇÃO	27
3	PROPOSIÇÃO	31
4	CAPÍTULO 1: TENDÊNCIAS EM PESQUISAS DE COMPÓSITOS RESTAURADORES: QUAL É O FUTURO?	33
4.1	Introdução	33
4.2	Compósitos restauradores auto-adesivos	34
4.3	Compósitos reforçados por fibra	39
4.4	Compósito auto-regeneráveis	41
4.5	Compósitos remineralizadores	44
4.6	Compósito antibacterianos	48
4.7	Considerações finais: Podem todas essas estratégias coexistirem?	50
5	CAPÍTULO 2: DESENVOLVIMENTO DE PARTÍCULAS DE FOSFATO DE CÁLCIO FUNCIONALIZADAS COM DERIVADOS DO DIMETACRILATO DE ETILENO GLICOL PARA USO ODONTOLÓGICO	51
5.1	Introdução	51
5.2	Materiais e Métodos	52
5.2.1	Síntese e caracterização das partículas	52
5.2.2	Materiais resinosos contendo partículas de DCPD	54
5.2.3	Grau de conversão	54
5.2.4	Propriedades mecânicas	55
5.2.5	Liberação de íons	56
5.2.6	Análise estatística	56
5.3	Resultados	56
5.3.1	Caracterização das partículas	56
5.3.2	Materiais resinosos contendo DCPD	60
5.4	Discussão	62
5.4.1	Caracterização das partículas	62
5.4.2	Materiais resinosos contendo partículas de DCPD	64
5.5	Conclusão	66
6	CAPÍTULO 3: PROPRIEDADES MECÂNICAS E LIBERAÇÃO DE ÍONS DE COMPÓSITOS DENTÁRIOS BIOATIVOS CONTENDO PARTÍCULAS DE FOSFATO DE CÁLCIO	69
6.1	Introdução	69
6.2	Materiais e Métodos	72
6.2.1	Formulação do compósito	72
6.2.2	Grau de conversão	72
6.2.3	Contração pós-gel	73
6.2.4	Resistência à flexão biaxial	73
6.2.5	Tenacidade à fratura	74
6.2.6	Liberação de íons	75
6.2.7	Análise estatística	75
6.3	Resultados	76
6.4	Discussão	80
6.5	Conclusão	83
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	85
	REFERÊNCIAS	87

1 PREFÁCIO

Esta tese é constituída pela tradução livre para o português do conteúdo de três artigos científicos:

- I. Maas MS, Alania Y, Natale LC, Rodrigues MC, Watts DC, Braga RR. Trends in restorative composites research: what is in the future? *Braz Oral Res.* 2017 Aug 28;31(suppl 1):e55.
doi: 10.1590/1807-3107BOR-2017.
- II. Natale LC, Rodrigues MC, Alania Y, Chiari MDS, Vilela HS, Vieira DN, Arana-Chavez V, Meier MM, Vichi FM, Braga RR. Development of calcium phosphate/ethylene glycol dimethacrylate particle for dental applications. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2018. Aug 9.
doi: 10.1002/jbm.b.34164
- III. Natale LC, Rodrigues MC, Alania Y, Chiari MDS, Boaro LCC, Cotrim M, Vega O, Braga RR. Mechanical characterization and ion release of bioactive dental composites containing calcium phosphate particles. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2018 Aug;84:161-167.
doi: 10.1016/j.jmbbm.2018.05.022.

2 INTRODUÇÃO

Compósitos resinosos passaram por grandes evoluções ao longo dos anos, o que ajudou a melhorar seu desempenho estético (Jandt and Sigusch 2009, Ferracane 2011, Rekow, Bayne et al. 2013), suas propriedades mecânicas (Ruddell, Maloney et al. 2002, Samuel, Li et al. 2009, Ferracane 2011) e a reduzir sua contração de polimerização (Braga and Ferracane 2004). Apesar destes avanços tecnológicos, estes materiais ainda apresentam como limitações a ocorrência de fratura da restauração (Rasines Alcaraz, Veitz-Keenan et al. 2014, Nedeljkovic, Teughels et al. 2015) e um maior risco de desenvolvimento de novas lesões de cárie na interface entre dente e restauração quando comparados ao amálgama (Bernardo, Luis et al. 2007, Rasines Alcaraz, Veitz-Keenan et al. 2014, Spencer, Ye et al. 2014).

O desenvolvimento de lesões de cárie adjacentes às restaurações de resina composta se deve à maior dificuldade de remoção do biofilme quando comparada ao amálgama, cerâmicas e ao esmalte dentário (Beyth, Domb et al. 2007, Brambilla, Ionescu et al. 2012, Esteban Florez, Hiers et al. 2016), associado a um vedamento marginal deficiente (Kermanshahi, Santerre et al. 2010, Kasraie, Azarsina et al. 2012, Lokhande, Padmai et al. 2014). O desenvolvimento dessas lesões aumenta a frequência com que essas restaurações são substituídas e, conseqüentemente, mais estrutura sadia do dente é desgastada (Tyas, Anusavice et al. 2000).

A partir da constatação destes fatos, estudos têm sido desenvolvidos para minimizar o risco de surgimento de lesões de cárie secundária através do uso de materiais odontológicos com ação remineralizante (Cheng, Weir et al. 2012, Khvostenko, Mitchell et al. 2013, Chiari, Rodrigues et al. 2015, Aljabo, Abou Neel et al. 2016, Zhang, Weir et al. 2016). Estudos recentes têm avaliado o efeito da incorporação de ortofosfatos de cálcio, por exemplo, em cimentos ortodônticos (Uysal, Amasyali et al. 2010, Chow, Wu et al. 2011), selantes de fósulas e fissuras (Silva, Pedrini et al. 2010, Zawaideh, Owais et al. 2016), sistemas adesivos (Melo, Cheng et al. 2013, Zhang, Weir et al. 2015) e compósitos resinosos restauradores (Chiari, Rodrigues et al. 2015, Rodrigues, Natale et al. 2015) com o objetivo de proteger a estrutura dentária contra a perda de mineral. A ação protetora destes materiais ocorre pela liberação de

íons Ca^{2+} e $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$. De modo geral, esta liberação está relacionada ao pH do meio (Melo, Weir et al. 2013), à hidrofilia da matriz resinosa (Skrtic and Antonucci 2007), à porcentagem de partículas incorporadas ao material (Xu, Moreau et al. 2011, Aghyarian, Rodriguez et al. 2014) e à área superficial destas partículas (Xu, Weir et al. 2007).

Estudos *in vitro* e *in situ* demonstraram a capacidade de remineralização de lesões iniciais de cárie através da incorporação de partículas de ortofosfato de cálcio a matrizes resinosas à base de dimetacrilatos (Dickens, Flaim et al. 2003, Langhorst, O'Donnell et al. 2009, Xu and Moreau 2010, Weir, Chow et al. 2012, Melo, Weir et al. 2013, Zhang, Weir et al. 2016). Por exemplo, um material restaurador resinoso à base de dimetacrilato contendo 40% em peso de nanopartículas de ACP (116 nm) e 20% em peso de partículas de vidro de bário aplicado em cavidades com margens em esmalte resultou em perda de mineral significativamente menor do que a perda observada ao redor do compósito controle contendo apenas partículas de vidro de bário (valores de ΔZ iguais a 14 μm e 34 μm , respectivamente). A profundidade da lesão também foi menor para o material contendo ACP (50 μm) em comparação ao grupo controle (70 μm) (Melo, Weir et al. 2013).

Apesar da capacidade de inibir o desenvolvimento de lesões de cárie, partículas de fosfato de cálcio apresentam o inconveniente de não atuarem como partículas de reforço (Xu and Moreau 2010, Chiari, Rodrigues et al. 2015). Pelo contrário, partículas de fosfato de cálcio se comportam como defeitos no meio do material devido à ausência de interação química com a fase orgânica, o que favorece a propagação de trincas no material (Skrtic, Hailer et al. 1996, Chiari, Rodrigues et al. 2015). Por exemplo, a incorporação de 40% em peso de TTCP a uma matriz resinosa à base de dimetacrilato resultou em queda de 50% na resistência à fratura quando comparada a matriz sem partículas de carga (Xu and Moreau 2010). Outro aspecto que contribui para a falta de efeito de reforço é que essas partículas se apresentam na forma de aglomerados com baixa resistência coesiva (Skrtic, Hailer et al. 1996, Chiari, Rodrigues et al. 2015).

Uma forma de se contornar estes problemas é modificar a superfície das partículas com o uso de agentes funcionalizantes, processo que reduziria a aglomeração e permitiria o estabelecimento de uma interface mais resistente

entre as partículas e a matriz resinosa (Antonucci, Liu et al. 2007, Rodrigues, Hewer et al. 2014). Por exemplo, ácidos carboxílicos foram utilizados para funcionalizar partículas de hidroxiapatita nanométricas (50-100 nm) e micrométricas (1-5 µm). Estas foram incorporadas na concentração de 50% ou 60% em peso a uma matriz resinosa composta à base de dimetacrilatos para avaliação das propriedades mecânicas. Os materiais contendo partículas funcionalizadas apresentaram resistência à flexão biaxial e módulo de elasticidade estatisticamente superiores em relação aos materiais com partículas não funcionalizadas. Os estudos não avaliaram a liberação de íons destes materiais (Domingo, Arcis et al. 2001, Arcis, Lopez-Macipe et al. 2002).

A síntese de nanopartículas de DCPD funcionalizadas com TEGDMA (dimetacrilato de trietileno glicol) e sua aplicação em materiais à base de dimetacrilatos foi descrita recentemente (Alania, Chiari et al. 2016, Rodrigues, Xavier et al. 2016). O DCPD é considerado um precursor da hidroxiapatita na mineralização de ossos e dentes (Qiu and Orme 2008). Apresenta solubilidade relativamente alta (LeGeros 1991) e possui índice de refração (1,54-1,55) semelhante ao das partículas de vidro de bário (1,53) (Anthony, Bideaux et al. 2000, Shortall, Palin et al. 2008). O TEGDMA é um monômero comumente utilizado em materiais restauradores resinosos comerciais. Sua característica de ácido fraco permite o estabelecimento de ligações íon-dipolo entre os átomos de oxigênio dos grupos etileno glicol (-O-CH₂-CH₂-) do TEGDMA e os íons cálcio do DCPD (Yoshida and Kihara 1987, Morra 1993). Além disso o grupo vinila do TEGDMA pode co-polimerizar com os monômeros dimetacrilato da matriz orgânica (Rodrigues, Hewer et al. 2014).

Partículas de DCPD funcionalizadas com 14% ou 22% em peso de TEGDMA (19-20 µm) foram incorporadas a uma matriz resinosa à base de dimetacrilato em frações volumétricas de 10% ou 20% substituindo partículas de vidro de bário e mantendo uma fração inorgânica total constante de 60%. Após 28 dias de armazenamento, a resistência à flexão biaxial do compósito experimental contendo 50% de vidro de bário e 10% de DCPD funcionalizado com 22% de TEGDMA apresentou valor estatisticamente semelhante ao controle contendo apenas vidro de bário. A liberação de íons, entretanto, foi inferior àquela apresentada pelo material contendo partículas não-funcionalizadas (Alania, Chiari et al. 2016). Em outro estudo recente, 20% em

volume de partículas de DCPD funcionalizadas com TEGDMA (20 μm) foram incorporadas a uma matriz resinosa contendo BisGMA e TEGDMA. A resistência à flexão biaxial do material contendo DCPD funcionalizado foi 32% maior do que a do material contendo partículas não funcionalizadas (17 μm). A liberação de íons de Ca^{2+} não foi afetada pela funcionalização, sendo estatisticamente semelhantes para os grupos funcionalizados e não funcionalizados ao longo de 28 dias (Rodrigues, Xavier et al. 2016).

A degradação de compósitos resinosos está relacionada a presença de monômeros que contêm grupos éster que sofrem oxidação e hidrólise quando em contato com a saliva ou outros fluidos. A longo prazo, a degradação da matriz e a hidrólise da interface matriz-partículas reduz o módulo de elasticidade (Ferracane, Hopkin et al. 1995), resistência flexural (Drummond and Miescke 1991, Arikawa, Kuwahata et al. 1995) e tenacidade à fratura (Truong and Tyas 1988, Ferracane, Hopkin et al. 1995). Estudo recente demonstrou que a incorporação de partículas de fosfato de cálcio reduziu as propriedades mecânicas após períodos prolongados de imersão quando comparada a materiais não bioativos. A incorporação de TTCP na concentração de 20% ou 70% (em peso) a uma resina à base de dimetacrilatos reduziu em aproximadamente 40% a resistência à flexão, após 28 dias de armazenamento, quando comparado ao material sem TTCP (Xu and Moreau 2010).

Devido aos bons resultados obtidos com a funcionalização de partículas de DCPD com TEGDMA, seria interessante avaliar o comportamento de outros monômeros derivados do etileno glicol dimetacrilato, como o DEGDMA (dietileno glicol dimetacrilato), EGDMA (etileno glicol dimetacrilato) e TETGDMA (tetraetileno glicol dimetacrilato). A diferença no número de unidades de etileno glicol entre os grupos metacrilato interfere na reatividade da molécula e na sua conformação espacial (Ruyter and Svendsen 1978, Froes-Salgado, Gajewski et al. 2015). Assim, acredita-se que o uso de monômeros diferentes afetará as características das partículas sintetizadas, bem como sua interação com a matriz resinosa.

3 PROPOSIÇÃO

Os objetivos deste projeto foram os seguintes:

- I. Sintetizar e caracterizar partículas de DCPD funcionalizadas com derivados do dimetacrilato de etileno glicol (EGDMA, DEGDMA, TEGDMA e TETDMA). A hipótese testada foi que os diferentes funcionalizantes resultam em partículas com características diferentes quanto à aglomeração (tamanho e morfologia), área superficial e porcentagem de monômero retido sobre as nanopartículas.
- II. Avaliar o efeito da incorporação destas nanopartículas sobre a resistência à flexão e módulo flexural, grau de conversão e liberação de íons de uma matriz resinosa contendo BisGMA e TEGDMA.
- III. Avaliar a resistência à flexão e módulo flexural, grau de conversão, liberação de íons, tenacidade à fratura e contração pós-gel de compósitos experimentais contendo nanopartículas de DCPD associadas a partículas de reforço.

Para os objetivos II e III, as hipóteses nulas testadas foram A) a incorporação de nanopartículas de DCPD (funcionalizadas ou não) não afeta as características dos materiais e B) a funcionalização das nanopartículas não interfere na liberação de íons.

4 CAPÍTULO 1: TENDÊNCIAS EM PESQUISAS DE COMPÓSITOS RESTAURADORES: QUAL É O FUTURO?

4.1 Introdução

Como o uso clínico dos compósitos já se aproxima de meio século, é possível identificar seus “ciclos de desenvolvimento” motivados por deficiências observadas na clínica. Nas duas primeiras décadas (1980 e 1990), o foco estava em sistemas de reforço que permitiriam materiais com propriedades mecânicas superiores, resistência ao desgaste e bom polimento, resultando no desenvolvimento de compósitos micro-híbridos (Ferracane 2011). Entre 1990 e 2000, os estudos foram direcionados para reduzir contração de polimerização como estratégia para diminuir a sensibilidade pós-operatória, a deflexão de cúspide e a formação de gaps na interface dentes-restauração (Braga and Ferracane 2004). Nesta década, os compósitos bulk-fill estão se tornando cada vez mais populares devido ao apelo clínico para se reduzir o tempo necessário para inserção do compósito no preparo cavitário (Fronza, Rueggeberg et al. 2015). Enquanto os compósitos resinosos se tornam cada vez mais onipresentes e seus limites de indicação são estendidos, sua longevidade é geralmente abreviada devido ao desenvolvimento de novas lesões de cárie na interface dente-restauração (“cárie secundária”) ou por fratura do material (Rasines Alcaraz, Veitz-Keenan et al. 2014, Nedeljkovic, Teughels et al. 2015).

Essas falhas não estão necessariamente relacionadas a um material deficiente. O nível de habilidade do profissional e a consciência do paciente sobre bons hábitos alimentares e de higiene oral parecem ser determinantes para o sucesso da restauração (Opdam, van de Sande et al. 2014, Beck, Lettner et al. 2015). Ainda assim, a experiência clínica sugere que melhorias na tenacidade à fratura (resistência a propagação de trincas), bem como a incorporação de mecanismos de proteção para reduzir o risco de desenvolvimento de cárie são necessárias para a longevidade da restauração. O objetivo desta revisão é apresentar ao leitor algumas das tecnologias recentemente disponibilizadas para uso clínico e descrever algumas das pesquisas que, se transferidas para a prática clínica, podem permitir

compósitos restauradores com maior durabilidade. Os tópicos discutidos podem ser divididos entre três grupos de estratégias: 1) simplificação do procedimento restaurador (compósitos auto-adesivos); 2) estratégias para reduzir o risco de fratura do compósito (compósitos reforçados com fibras e auto-regenerativos); 3) mecanismos de defesa contra novas lesões de cárie na interface dente-restauração (agentes remineralizadores e antibacterianos).

4.2 Compósitos restauradores auto-adesivos

Compósitos restauradores auto-adesivos (“self-adhesive composites”, SACs) foram introduzidos no mercado odontológico em 2009 e atualmente existem três exemplos disponíveis para uso clínico (**Tabela 4.1**). Estes materiais de baixa viscosidade são indicados para pequenas cavidades classe I e para lesões cervicais não-cariosas (Altunsoy, Botsali et al. 2015). Infelizmente, relatos de estudos *in vitro* destes materiais são escassos e os estudos clínicos quase inexistentes.

Uma diferença fundamental entre SACs e cimentos resinosos auto-adesivos é que os SACs não são submetidos a reações de neutralização ácido-base e não contêm partículas de vidro que liberam flúor (Ferracane, Stansbury et al. 2011). De fato, os SACs são mais parecidos com sistemas adesivos auto-condicionantes contendo monômeros ácidos, como o dimetacrilato de glicerol fosfato (GPDM), metacrilatos carboxílicos (por exemplo, 4-MET) ou metacrilato fosfato de etila (BMEP). Estes monômeros variam em acidez de leve (por exemplo, GPDM com um pH=1,9) para ultra-suave (4-MET, pH =3-4) (Van Meerbeek, Peumans et al. 2010) e são responsáveis por condicionar o substrato dentário e penetrar através da camada de *smear*, formando uma camada híbrida de espessura sub-micrométrica (Vichi, Margvelashvili et al. 2013). O metacrilato de hidroxietila (HEMA) é adicionado para aumentar a molhabilidade do material sobre a superfície dentinária (Van Landuyt, Snauwaert et al. 2007).

Similar aos cimentos resinosos auto-adesivos, a interação do SAC com a dentina é limitada pela extensão da descalcificação produzida pelo monômero ácido. Além disso, sua viscosidade relativamente alta, como resultado da

incorporação de carga, faz a molhabilidade do substrato ser ainda mais difícil (Rengo, Goracci et al. 2012, Bektas, Eren et al. 2013, Vichi, Margvelashvili et al. 2013), o que limita a difusão do monômero através das fibras colágenas (Miyazaki, Ando et al. 1995). Contudo, alguma interação com o cálcio da hidroxiapatita foi verificada, sugerindo que a retenção não depende somente da interação micro-mecânica (Yoshida, Nagakane et al. 2004, Monticelli, Osorio et al. 2008).

No geral, os estudos concordam que os SACs exibem valores de resistência de união aos tecidos dentais inferiores a de sistemas restauradores convencionais (**Tabela 4.2**) (Fu, Kakuda et al. 2013, Poitevin, De Munck et al. 2013, Vichi, Margvelashvili et al. 2013, Goracci, Cadenaro et al. 2014, Tuloglu, Sen Tunc et al. 2014, Makishi, Pacheco et al. 2015, Sachdeva, Goswami et al. 2016), com poucas exceções em casos nos quais os compósitos foram testados dentina radicular (Giachetti, Scaminaci Russo et al. 2012, Mobarak and Seyam 2013). Vários estudos sugerem que o pré-condicionamento de esmalte e dentina com ácido fosfórico aumentaria significativamente a resistência de união, uma vez que o ácido remove a camada de *smear* e aumenta a área de superfície (Isman, Karaarslan et al. 2012, Eliades, Birpou et al. 2013, Goracci, Margvelashvili et al. 2013, Poitevin, De Munck et al. 2013, Yazici, Agarwal et al. 2013, Altunsoy, Botsali et al. 2015). O uso de um adesivo auto-condicionante antes da aplicação do Vertise Flow aumentou significativamente a resistência de união à dentina e reduziu a microinfiltração, quando comparado com a aplicação do SAC sozinho (Tuloglu, Sen Tunc et al. 2014). Obviamente, adicionando-se um passo extra ao procedimento restaurador com o compósito auto-adesivo vai contra o objetivo de simplificar a técnica. Curiosamente, apesar de sua baixa resistência de união, a Vertise Flow mostrou melhor capacidade de selamento marginal em comparação com um sistema adesivo que utiliza ácido fosfórico e um sistema auto-adesivo, possivelmente devido à sua expansão higroscópica e ao desenvolvimento de tensões de polimerização relativamente menores na interface adesiva (Rengo, Goracci et al. 2012, Vichi, Margvelashvili et al. 2013, Sachdeva, Goswami et al. 2016). Outra evidência da limitada adesão destes materiais com a estrutura dentária foi a taxa de retenção de apenas 33% pelo Fusio em lesões cervicais

não-cariosas após seis meses de avaliação, em comparação com a retenção de 100% de um compósito restaurador convencional (Celik, Aka et al. 2015).

As propriedades físicas dos SACs não foram completamente avaliadas. Em um estudo, o Vertise Flow apresentou resistência à flexão semelhante a compósitos Flowable convencionais (não auto-adesivos) (Czasch and Ilie 2013). Após abrasão pela escovação, o Vertise Flow apresentou superfície mais áspera quando comparada ao Fusio e a um compósito restaurador convencional (Malavasi, Macedo et al. 2015). Os resultados podem estar ligados ao tipo de matriz orgânica, uma vez que compósitos à base de uretano têm uma melhor resistência ao desgaste do que compósitos a base de BisGMA (Soderholm, Lambrechts et al. 2001). SACs também apresentaram menor retenção de brilho do que o controle convencional. Compósitos auto-adesivos são mais hidrofílicos do que os compósitos convencionais devido à presença de monômeros ácidos e HEMA. De fato, o Vertise Flow apresentou expansão higroscópica (Wei, Silikas et al. 2011) e sorção de água (Wei, Silikas et al. 2011) maior quando comparado com compósitos convencionais após 150 dias em água. A hidrofília dos SACs é uma desvantagem para este material, o que facilita a plastificação das ligações cruzadas, a formação do biofilme e ao aumento da degradação (Wei, Silikas et al. 2011, Eliades, Birpou et al. 2013). A ideia de unir o compósito diretamente à estrutura do dente é atraente. No entanto, devido a quantidade limitada de informações disponíveis, parece que compósitos restauradores auto-adesivos estão no seu início e mais pesquisas são necessárias para resolver as limitações encontradas com os materiais atuais.

Tabela 4.1. Composição de compósito autoadesivos comercialmente disponíveis

Material	Fabricante	Composição
Fusio Liquid Dentin	Pentron Clinical, Orange, CA, EUA	Resina: dimetacrilato de diuretano alifático (UEDMA), trietileno glicol dimetacrilato (TEGDMA), metacrilato de hidroxietil (HEMA), metacrilato de ácido trimetílico (4-MET), catalisador
		Cargas: SiO ₂ (65% em peso), vidro de bário silanizado, NaF
Vertise Flow	Kerr, Orange, CA, EUA	Resina: dimetacrilato de ácido glicerolfosfórico (GPDMA), HEMA, metacrilato de glicidila bisfenol A (Bis-GMA), catalisador
		Cargas: carga pré-polimerizada, vidro de bário silanizado, nanopartículas coloidais de SiO ₂ , YF ₃ (70% em peso)
Embrace Wetbond**	Pulpdent, Watertown, MA, EUA	Resina: dimetacrilato de diuretano alifático (UEDMA), fosfato etil bis-metacrilato (BMEP), trimetacrilato trimetilil propano (TMPTMA), HEMA, água, catalisador
		Cargas: SiO ₂ , NaF (37% em peso)

**informações do fabricante

Tabela 4.2. Estudos de resistência à união

Referência	Substrato de união	Método testado	Compósito auto-adesivo	Grupo Controle	Resultado
Giachetti et al. (2012)	dentina radicular	Tração	Vertise Flow	adesivo condiciona e enxágua + cimento resinoso	SAC: 21.6 - 23.2 MPa
					Controle: 20.4 - 24.7 MPa
Mobarak and Seyam (2013)	dentina radicular	Tração	Vertise Flow	adesivo condiciona e enxágua + cimento resinoso ou cimento resinoso autocondicionante de polimerização dual	SAC: 18.0 - 19.1 MPa
					Controle: 11.3 - 14.4 MPa
Vichi et al. (2013)	esmalte/dentina	Cisalhamento	Vertise Flow	adesivo autocondicionante + flowable compósito	Enamel: SAC: 2.6 ± 2.6 MPa; Controle: 5.0 - 12.1 MPa
					Dentina: SAC: 3.4 ± 1.6 MPa; Controle: 5.8 - 12.2 MPa
Poitevin et al. (2013)	esmalte/dentina	Micro-tração	Vertise Flow Fusio Liquid Dentin	adesivo autocondicionante + flowable compósito	SAC (esmalte): Vertise Flow: 11.0 ± 4.2 MPa
					• Vertise Flow com condicionamento prévio: 23.1 ± 7.1 MPa
					• Fusio Liquid Dentin: 13.0 ± 4.3 MPa
					Controle (esmalte): 28.0 ± 9.8 MPa
					SAC (dentina):
					• Vertise Flow: 1.8 ± 2.7 MPa
					• Vertise Flow com condicionamento prévio: 18.7 ± 11.0 MPa
					• Fusio Liquid Dentin: 17.7 ± 8.6 MPa

					Control (dentina): 7.9 - 44.8 MPa
Goracci et al. (2013)	esmalte	Cisalhamento	Vertise Flow	adesivo autocondicionante ou condiciona e enxágua + cimento ortodôntico	SAC: • Vertise Flow: 3.0 ± 1.2 MPa • Vertise Flow com condicionamento prévio: 6.6 ± 1.1 MPa
					Controle: 9.0 - 11.7 MPa
Fu et al. (2013)	dentina	Micro-tração	Vertise Flow Fusio Liquid Dentin	sistema adesivo primer autocondicionante + compósito resinoso	SAC: • Vertise Flow: 13.0 ± 9.9 MPa • Fusio Liquid Dentin: 25.2 ± 6.1 MPa
					Controle: 79 ± 16.1 MPa
Tuloglu et al. (2014)	dentina primária e terciária	Cisalhamento	Vertise Flow	adesivo autocondicionante + flowable compósito	SAC (dentina primária): • Vertise Flow: 4.1 ± 2.3 MPa • Vertise Flow previamente com adesivo autocondicionante: 8.7 ± 1.7 MPa
					Controle (dentina primária): 15.6 ± 2.6 MPa
					SAC (permanent dentin): • Vertise Flow: 19.3 ± 2.3 MPa • Vertise Flow previamente com adesivo autocondicionante: 25.6 ± 3.0 MPa
					Controle(dentina terciária): 35.7 ± 2.9 MPa
Makishi et al. (2015)	dentina	Cisalhamento	Vertise Flow Fusio Liquid Dentin	adesivo condiciona e enxágua +compósito resinoso	SAC: • Vertise Flow: 13.9 ± 3.6 MPa • Fusio Liquid Dentina: 11.3 ± 3.2 MPa
					Controle: 27.3 ± 6.1 MPa
Sachdeva et al. (2016)	dentina primária	Cisalhamento	Vertise Flow Fusio Liquid Dentin	compósito convencional flowable	SAC: • Vertise Flow: 12.0 ± 3.1 MPa • Fusio Liquid Dentina: 14.2 ± 4.1 MPa
					Controle: 21.1 ± 3.8 MPa

4.3 Compósitos reforçados por fibra

Compósitos restauradores atuais apresentam valores de tenacidade à fratura (K_{Ic}) variando entre 0,9 e 1,8 MPa.m^{0,5} (Ferracane 2011), que parece insuficiente para evitar falhas por fratura (Rasines Alcaraz, Veitz-Keenan et al. 2014, Nedeljkovic, Teughels et al. 2015). A incorporação de pequenas frações de fibras de vidro curtas e aleatórias como parte do sistema de carga é uma estratégia atualmente em uso para criar formulações mais tenazes.

O uso de fibras de vidro como reforço em compósitos dentários não é novo. O uso de fibras de vidro com baixa razão de aspecto (RA: razão entre o comprimento e diâmetro) com orientação aleatória como fase de reforço em compósitos foi publicado em 1989 (Krause, Park et al. 1989) e nos anos 90 surgiram no mercado compósitos contendo fibras com baixa RA (20-120 µm de comprimento, 6 µm de diâmetro) associadas a partículas de reforço (Restolux, Lee Pharmaceutical, South El Monte, CA, USA, and Alert, Pentron, Orange, CA, USA). De fato, estudos mostraram valores mais altos de K_{Ic} para ALERT em comparação a outros materiais com consistência regular ou condensável, mas nenhuma diferença na resistência à flexão foi observada (Choi, Ferracane et al. 2000, Knobloch, Kerby et al. 2002).

Recentemente, um compósito bulk-fill contendo fibras de vidro do tipo E com alta RA (1-2 mm de comprimento, 17 µm de diâmetro) foi lançado (EverX Posterior, GC Europe, anteriormente conhecido como Xenius Base). A fração total em peso de carga é 74,2 % (53,6 vol%), com 8,6% em peso (7,2% em volume) de fibras de vidro (Lassila, Garoushi et al. 2016). A sua matriz resinosa é constituída de BisGMA, TEGDMA e PMMA (polimetacrilato de metila), formando uma rede polimérica semi-interpenetrante (semi-IPN) (Garoushi, Hatem et al. 2015). A utilização de uma camada final de material particulado é obrigatória para estas restaurações porque o polimento de materiais contendo fibra é ruim. No geral, a resistência à fratura não parece diferir de materiais apenas com partículas (Goracci, Cadenaro et al. 2014, Leprince, Palin et al. 2014). A resistência à fadiga destes materiais também não diferiu de compósitos convencionais (Barreto, Van Ende et al. 2016). Apenas valores de K_{Ic} mostraram-se significativamente maiores comparado a outros compósitos comerciais (Garoushi, Sailyoja et al. 2013).

Para entender o efeito das fibras sobre as propriedades dos compósitos, é importante olhar para as variáveis envolvidas no reforço das fibras usando

delineamentos experimentais sistemáticos. Dois importantes parâmetros relacionados ao uso de compósitos reforçados com fibras curtas ou aleatórias são a razão de aspecto e a fração volumétrica. Uma transferência efetiva de tensão da matriz para a fibra requer fibras com um comprimento mínimo (“comprimento crítico”), estimado a partir da resistência da fibra, diâmetro (portanto, relacionado ao RA da fibra) e da resistência de união da interface matriz/fibra (Petersen 2005). Por exemplo, a adição de 20% em volume de fibras com alta RA (RA=68) em um compósito comercial flowable (fração de carga: 43,6 vol%) apresentou efeito positivo na resistência à flexão em comparação com fibras de baixa RA (RA=5,2) (Shouha, Swain et al. 2014).

A substituição de até 7,5% em volume das partículas por fibras (AR=140) não aumentou a resistência à flexão de compósitos experimentais contendo 60% em volume de carga. Embora as fibras orientadas aleatoriamente resultem em um material com comportamento isotrópico, é possível que a inserção do compósito no molde durante a confecção dos espécimes resulte em orientação perpendicular da fibra à aplicação da força, o que reduz a eficiência do reforço (Bocalon, Mita et al. 2016).

Por outro lado, estudos concordam que compósitos comerciais contendo fibras apresentam maior K_{Ic} do que compósitos apenas com partículas (Choi, Ferracane et al. 2000, Knobloch, Kerby et al. 2002, Garoushi, Sailynoja et al. 2013, Bijelic-Donova, Garoushi et al. 2016, Lassila, Garoushi et al. 2016). De fato, a substituição de 5% em volume de partículas de vidro por fibras em compósitos com 60% em volume de carga resultou em um aumento de duas vezes no K_{Ic} (de 1,25 para 2,6 MPa.m^{0,5}) (Bocalon, Mita et al. 2016). A presença de fibras aumenta o “ponteamto de trinca”, ou seja, quando uma trinca se propaga através do material, as fibras “seguram” as superfícies da trinca dificultando a sua abertura e, como resultado, mais energia é necessária para a trinca se propagar (Quinn 2007).

Além de aumentar o K_{Ic} , as fibras também podem interferir na contração de polimerização do compósito. Compósitos contendo fibras com orientação contínua apresentam comportamento anisotrópico em relação à contração, com valores mais baixos registrados na direção das fibras em comparação com a direção perpendicular (Tezvergil, Lassila et al. 2006, Garoushi, Sailynoja et al. 2013). Por outro lado, compósitos contendo fibras curtas com orientação aleatória apresentam comportamento isotrópico. No entanto, dependendo da configuração dos espécimes e método de teste empregado, compósitos contendo fibras podem apresentar menor

contração do que compósitos apenas com partículas. Por exemplo, o Xenius Base apresentou 43-51% menor contração pós-gel em comparação a compósitos com maiores frações de carga quando testado pelo método da extensometria (Garoushi, Sailynoja et al. 2013). Usando também o método da extensometria, uma relação inversa entre o teor de fibra e a contração pós-gel foi observado quando 2,5 % a 7,5% em volume de partículas de carga foram substituídas por fibras de vidro de 1,4 mm em um compósito experimental contendo 60% em volume de carga, com redução de 70% na contração do compósito com o maior teor de fibras (Bocalon, Mita et al. 2016). Extensômetros registram principalmente a contração ao redor da grade do sensor e durante o preparo dos espécimes, algum grau de orientação das fibras pode ocorrer como resultado da pressão do compósito contra o extensômetro. Consequentemente, o material não se comporta como sendo totalmente isotrópico. Ao usar o dilatômetro de mercúrio, um compósito contendo 6% em volume de fibras e 54% em volume de partículas mostrou redução muito mais discreta da contração total (11%) em comparação com compósito com 60% em volume de partículas apenas. Como o desenvolvimento da tensão de polimerização é o resultado da interação complexa entre módulo de elasticidade, contração e a rigidez do sistema de teste, a diferença na contração não foi suficiente para reduzir a magnitude da tensão (Bocalon, Mita et al. 2016). Outros estudos mostraram que o EverX Posterior desenvolveu tensão de polimerização e formação de gap *in vitro* similar ou maior comparado com outros materiais bulk-fill (Fronza, Rueggeberg et al. 2015, Shouha and Ellakwa 2016).

4.4 Compósito auto-regeneráveis

O mecanismo de falha em polímeros pode ser descrito como resultado do acúmulo de danos, em que as microtrincas propagam-se devido à concentração de tensões térmicas e mecânicas na extremidade da trinca (Huyang, Debertin et al. 2016). Portanto, impedindo a extensão da trinca pelo fechamento de suas faces ("crack healing") pode-se aumentar a longevidade do compósito. O desenvolvimento de polímeros auto-regeneráveis foi um avanço na química destes materiais. De acordo com Huyang et al. (Huyang, Debertin et al. 2016) "mecanismos de auto-regeneração são modelos biomiméticos de sistemas de reparo autônomos de tecidos vivos que lidam eficientemente com danos, por exemplo, a regeneração de um osso fraturado".

A “prova de conceito” para esta abordagem foi publicada por Dry (Dry 1996). Em uma série de experimentos, ela usou fibras de vidro ocas com um sistema epóxi de duas partes ou um adesivo de cianoacrilato incorporados em amostras de epóxi para demonstrar a habilidade de auto-regeneração do material. Além de recuperar parte da resistência inicial após a fratura, o sistema de auto-reparo mostrou ser capaz de parar a propagação de microtrincas e impedir a sua reabertura.

Pesquisas em sistemas de auto-regeneração de compósitos odontológicos derivam da abordagem introduzida por White et al. (White, Sottos et al. 2001). Eles sintetizaram microcápsulas de formaldeído de uréia (FU) preenchidas com dicitopentadieno (DCPD) (50-200 μm) e dispersaram-nas em uma matriz epóxica. Quando a extremidade da trinca atingiu uma cápsula, esta foi rompida e o DCPD foi liberado dentro da trinca. A polimerização dos agentes de regeneração foi acionada pelo contato com um metal de transição catalisador (catalisador de Grubbs) incorporado à matriz. Uma regeneração de 60% foi relatada em espécimes contendo 10% em peso de microcápsulas e 2,5% em peso de catalisador carregados monotonicamente até a falha em modo I (i.e., perpendicular à pre-trinca) e testados novamente após 48 horas de regeneração. Em desenvolvimento subsequente, eles testaram microcápsulas preenchidas com solvente epóxi (Caruso, Blaiszik et al. 2008). Neste caso, a regeneração ocorreu devido ao inchaço do epóxi e o transporte da amina residual para a trinca. O epóxi adicional liberado da microcápsula aumenta a chance de regeneração da trinca por ligação cruzada. Depois de um primeiro evento de regeneração com eficiência de 100% (isto é, recuperação total do K_{Ic} inicial), um máximo de cinco eventos de regeneração foram verificados, com eficiência decrescente devido ao esgotamento do agente regenerador, bem como da amina disponível.

O carregamento em fadiga é um ensaio clínico mais relevante para testar o auto-reparo de polímeros do que condições estáticas. Verificou-se que sob condições cíclicas a eficiência da regeneração está relacionada ao crescimento da taxa da trinca (definida pela amplitude e frequência da tensão), a taxa de polimerização do agente regenerador e a ocorrência de períodos de descanso. Por exemplo, em uma resina epóxi contendo 20% em peso de microcápsulas de FU preenchidas com DCPD, se a intensidade da tensão é tal que a extensão da trinca ocorre a uma taxa semelhante à polimerização do agente regenerador, a extensão da durabilidade sob fadiga varia de 89% a 213% (Brown, White et al. 2005).

A primeira tentativa de se desenvolver um compósito dentário auto-regenerador utilizando microcápsulas de FU preenchidas com DCPD foi realizada por White et al. (White, Sottos et al. 2001). Espécimes à base de BisGMA/UDMA/TEGDMA contendo 55% em peso sílica silanizada, 5% em peso de microcápsulas (tamanho médio: 50 μm) e 2% em peso de catalisador de Grubbs foram testados para K_{Ic} e retestados após um período de regeneração de 7 dias em temperatura ambiente, com eficácia de regeneração de 57% (Wertzberger, Steere et al. 2010). Deve-se notar que a presença de cápsulas dentro da resina pode fornecer algum benefício em termos de propriedades mecânicas, independentemente do efeito da auto-regeneração. Por exemplo, nanocápsulas de poliuretano (PU) contendo TEGDMA foram sintetizadas e incorporadas a um sistema adesivo comercial de frasco único de dois passos. A regeneração da trinca não era esperada, uma vez que nenhum iniciador extra foi incorporado. Ainda assim, um aumento significativo na resistência de união à dentina foi verificado para o material contendo 9% em peso de nanocápsulas, possivelmente devido a um efeito de tenacificação fornecido pela flexibilidade do PU (Ouyang, Huang et al. 2011).

Preocupações acerca da segurança biológica do DCPD (Kransler 2014) levou à pesquisa de diferentes sistemas de auto-reparo para compósitos odontológicos, baseados em agentes regeneradores microencapsulados. Estudos sobre o uso de microcápsulas de poliformaldeído de uréia (diâmetro médio: 70 μm) contendo TEGDMA e uma amina terciária (N,N-dihidroxietil-p-toluidina, DHEPT) como ativador de compósitos experimentais foram recentemente publicados (Wu, Weir et al. 2015, Wu, Weir et al. 2016, Wu, Weir et al. 2016). Este sistema de auto-reparo usa peróxido de benzoíla (BPO) adicionado à matriz resinosa como iniciador para polimerizar o líquido regenerador. No primeiro estudo (Wu, Weir et al. 2016), as microcápsulas foram adicionadas a uma matriz resinosa à base de BisGMA e TEGDMA. Para frações em massa de microcápsulas de até 15%, nenhum efeito foi observado para a resistência à flexão, enquanto que o K_{Ic} aumentou 40% para o material com conteúdo mais alto de microcápsulas. A eficiência do reparo apresentou um platô a partir de 10% de microcápsulas, de aproximadamente 65%. Em outro estudo, compósitos experimentais contendo 35% de partículas de reforço, 20% de partículas de ACP (para estimular a remineralização), 3,75% em peso de um agente antibacteriano (metacrilato de dimetilaminohexadecil, DMAHDM), 0,5% em peso de BPO e diferentes frações em massa microcápsulas de TEGDMA-DHEPT foram testados. O K_{Ic} inicial

não foi afetado pela presença de até 7,5% em peso de microcápsulas. Vinte quatro horas após o reposicionamento dos fragmentos no molde, os espécimes foram novamente testados e a eficiência de reparo se mostrou linearmente relacionada com o conteúdo de microcápsulas, variando de 25% (2,5% de microcápsulas) a 81% (10% em peso) (Wu, Weir et al. 2015). A eficiência do reparo de um compósito contendo 7,5% de microcápsulas com TEGDMA-DHEPT não foi afetada pelo armazenamento prolongado da amostra em água antes do teste inicial de K_{Ic} (até seis meses), ou quando o reparo ocorreu em água (Wu, Weir et al. 2016).

Um compósito dentário auto-regenerativo (ou mais precisamente um compômero) à base de um cimento de ionômero de vidro foi recentemente desenvolvido (Huyang, Debertin et al. 2016). Microcápsulas de sílica silanizada preenchidas com uma solução aquosa de ácido poliacrílico (diâmetro médio: 29 μ m) foram preparadas e incorporadas a uma matriz fotopolimerizável à base de BisGMA/HEMA e 70% de partículas de vidro silicatofluoroamina de estrôncio. O objetivo era formar um cimento de ionômero de vidro reparador de trinca quando o líquido regenerador fosse liberado. A silanização da microcápsula foi utilizada para melhorar a resistência interfacial entre a matriz resinosa e a cápsula, favorecendo sua ruptura ao invés do seu descolamento em contato com a trinca. Ao re-testar o K_{Ic} após quatro dias, a eficácia máxima de reparo foi de 25%, obtida com um conteúdo de microcápsulas de 10% em peso.

4.5 Compósitos remineralizadores

Partículas de fosfato de cálcio (CaP) têm sido estudadas como cargas liberadoras de íons em compósitos resinosos há décadas (Skrtic, Hailer et al. 1996, Weir, Chow et al. 2012). A liberação de íons cálcio e fosfato torna o meio supersaturado, o que favorece a deposição de cristais de hidroxiapatita (HA) sobre o esmalte (Cochrane, Cai et al. 2010). Várias fases de CaP foram testadas como carga bioativa em compósitos restauradores, por exemplo, fosfato de cálcio amorfo (ACP) (Kida and Matyja 1990, Marovic, Tarle et al. 2014), fosfato di-cálcico di-hidratado (DCPD) (Chiari, Rodrigues et al. 2015), fosfato di-cálcico anidro (DCPA) (Xu, Weir et al. 2007) e fosfato tetracálcico (TTCP) (Xu and Moreau 2010).

A eficácia dos compósitos contendo CaP em promover a recuperação mineral dos tecidos dentários foi demonstrada em vários estudos. Por exemplo, um material contendo 40% em peso de ACP disperso em uma matriz à base de BisGMA/TEGDMA/HEMA foi capaz de recuperar 71% do conteúdo mineral de lesões não cavitadas em esmalte bovino, após quatro semanas de remineralização estática e 38% após duas semanas sob ciclagem de pH (modelo dinâmico) (Skrtic, Hailer et al. 1996). Um cimento resinoso contendo 20% em peso de partículas de DCPA (1,1 μm), 60% em peso de partículas de TTCP (16 μm) e 1,5% de hexafluorosilicato de sódio em contato com dentina humana promoveu um aumento do conteúdo mineral entre 38% e 47% após cinco semanas de imersão em solução semelhante a saliva (Dickens, Flaim et al. 2003). Um material contendo 40% em peso de ACP modificado por zircônia (55 μm) disperso em uma matriz resinosa à base de BisGMA/TEGDMA/HEMA apresentou remineralização de 14% em lesões cavitadas de esmalte humano após 30 dias de ciclagem em pH (Langhorst, O'Donnell et al. 2009). O primeiro estudo associando nanopartículas de ACP (116 nm, 40% em peso) e partículas de vidro (1,4 μm , 20% em peso) em uma matriz à base de BisEMA/TEGDMA/HEMA apresentou 22% de remineralização em condições de ciclagem de pH semelhantes àsquelas utilizadas no estudo anterior (Weir, Chow et al. 2012). É interessante ressaltar que esses estudos *in vitro* compartilham a característica de utilizarem materiais experimentais com matrizes resinosas hidrofílicas, o que facilita o trânsito de fluidos através do material e, consequentemente, aumenta a liberação de íons. Além disso, observa-se que modelos experimentais utilizando ciclagem de pH resultaram em menor recuperação mineral em comparação com modelos de remineralização estáticos (imersão em solução de cálcio). O efeito protetor de um compósito contendo CaP contra a desmineralização do esmalte foi verificado em um estudo *in situ*. Cavidades preparadas em fragmentos de esmalte humano foram restauradas com um compósito experimental contendo ACP (116 nm, 40% em peso) e partículas de vidro (1,4 μm , 20% em peso) e matriz resinosa à base de BisGMA e TEGDMA. Depois de 14 dias na presença de biofilme, a perda mineral para este material foi de 59% menor quando comparada à fragmentos restaurados com compósito controle (Melo, Cheng et al. 2013).

Compósitos contendo partículas de CaP são considerados “materiais inteligentes” porque a liberação de íons aumenta em condições ácidas devido ao

aumento da erosão das partículas. Além disso, para maximizar a liberação de íons, partículas com área superficial alta são preferidas (Xu, Weir et al. 2007). A liberação de íons aumenta exponencialmente com a fração volumétrica de partículas (Xu, Weir et al. 2010). Finalmente, a hidrofilia da matriz deve ser levada em consideração, o que interfere no acesso da água às partículas e, conseqüentemente, a liberação de íons (Skrtic and Antonucci 2007). Como poderia ser esperado, a liberação de íons não ocorre indefinidamente e todas as variáveis acima devem ser ajustadas para que se tenha um material capaz de fornecer uma proteção duradoura contra o desafio desmineralizador. Recentemente, foi demonstrado que um compósito contendo 20% em peso de ACP e 50% em peso de vidro silanizado foram capazes de recarregar após esgotar completamente sua liberação de íons (após 70 dias imersão em pH=4) ao ser imerso em solução de fosfato de cálcio (um minuto, 3 vezes ao dia, por três dias) (Zhang, Weir et al. 2016).

Apesar de altas frações em volume de partículas de CaP aumentarem o potencial remineralizante do compósito, a sua presença no material pode causar uma significativa redução de algumas das suas propriedades mecânicas (Xu and Moreau 2010, Aljabo, Xia et al. 2015, Chiari, Rodrigues et al. 2015). Por exemplo, um compósito experimental contendo 40% em volume de partículas de vidro (0,5 μm) e 20% em volume de DCPD (8 μm) apresentou resistência à flexão 28% menor em comparação com um grupo controle contendo apenas 60% em volume de partículas de vidro. O K_{Ic} inicialmente melhorou com a substituição das partículas de vidro por DCPD. No entanto, após 28 dias de armazenamento em água, uma redução de 35% foi observada para o compósito contendo DCPD, enquanto nenhuma mudança significativa ocorre com o controle (Chiari, Rodrigues et al. 2015).

A principal causa do efeito negativo das partículas de CaP nas propriedades mecânicas é a ausência de interação química entre elas e a matriz resinosa (Dui and Zheng 2007, Xu and Moreau 2010). Para eliminar ou pelo menos reduzir essa limitação, a funcionalização das partículas seria uma alternativa. O uso de silano para funcionalizar as partículas de DCPA apresentou aumento significativo da resistência de fratura do compósito quando comparado com um controle contendo DCPA não silanizado. No entanto, a liberação de íons foi comprometida devido ao caráter hidrofóbico do silano, o que dificulta o acesso da água às partículas (Xu, Weir et al. 2007). Bons resultados mecânicos foram obtidos quando partículas de HAP foram tratadas com ácidos acrílicos e metacrílicos. Infelizmente, a liberação de íons não foi

testada (Arcis, Lopez-Macipe et al. 2002). Recentemente, a síntese de partículas de DCPD funcionalizadas com TEGDMA foi descrita (Rodrigues, Hewer et al. 2014). O TEGDMA é capaz de se ligar ao Ca^{2+} através de ligações íons-dipolo com os átomos de oxigênio dos grupos etileno glicol. A incorporação de 20% em volume destas partículas em uma resina à base de BisGMA/TEGDMA resultou em um aumento na resistência à flexão em comparação com o material contendo partículas não funcionalizadas (Rodrigues, Xavier et al. 2016). Uma melhoria similar foi observada em um estudo subsequente, em que um compósito experimental contendo 40% em volume de partículas de vidro de bário ($0,5 \mu\text{m}$) e 20% de DCPD funcionalizado com TEGDMA ($19 \mu\text{m}$) foi comparado a uma formulação similar contendo DCPD não funcionalizado (Alania, Chiari et al. 2016).

Compósitos contendo partículas de CaP podem sofrer degradação mais severa após imersão prolongada em água do que os compósitos convencionais, possivelmente devido à maior sorção de água proporcionada pelo trânsito de fluidos ao longo da interface entre matriz e partículas de CaP. Por exemplo, compósitos contendo partículas de vidro e DCPD apresentou até 33% de redução da resistência à flexão após 28 dias em água contra uma redução de 16% do compósito sem DCPD (Chiari, Rodrigues et al. 2015). Mas nenhuma diferença na resistência foi observada após 2 anos de imersão em água para compósitos contendo 10-20% em peso de nanopartículas de ACP (112 nm) e 65-50% em peso de vidro de bário ($1,4 \mu\text{m}$) e controle com 75% em peso de partículas de vidro (Moreau, Weir et al. 2012).

Apesar de todas as atividades de pesquisa envolvendo compósitos com CaP, parece que o conceito ainda não foi abraçado por fabricantes de materiais odontológicos. A única exceção é um compósito restaurador contendo 38% em peso de ACP, lançado em 2012 (Aegis V, Bosworth, Skokie, EUA). Relatos da literatura e informações do fabricante são escassos. Sua resistência à flexão é reduzida comparada a um compósito microhíbrido, o que explica sua indicação apenas para restaurações classe V. A partir do mesmo fabricante, um selante contendo ACP e um cimento ortodôntico apresentaram potencial remineralizante semelhante a um material contendo flúor *in vitro* (Silva, Pedrini et al. 2010, Chow, Wu et al. 2011).

4.6 Compósito antibacterianos

Enquanto sistemas adesivos contendo agentes antibacterianos estão no mercado há vários anos, compósitos restauradores com atividade antibacteriana ainda estão em desenvolvimento. Idealmente, os compósitos antibacterianos devem atender a um conjunto de requisitos: 1) não-tóxico (Antonucci, Zeiger et al. 2012), 2) ação antibacteriana contra um amplo espectro de microorganismos (Wang, Xie et al. 2016) e 3) efeito duradouro (Zhang, Wu et al. 2014, Cheng, Zhang et al. 2016). Além disso, é muito importante que a incorporação de agentes antibacterianos não comprometa as propriedades mecânicas e ópticas do material restaurador (Tavassoli Hojati, Alaghemand et al. 2013, Zhang, Wu et al. 2014).

A associação entre um composto quaternário de amônio (QAM) e um grupo metacrilato resultou em um monômero antibacteriano com baixo nível de liberação (Imazato 2009, Antonucci, Zeiger et al. 2012, Cheng, Zhang et al. 2016, Wang, Xie et al. 2016). A primeira tentativa de incorporar um monômero copolimerizável antibacteriano em um compósito experimental foi relatado há mais de 20 anos. Quando o MDPB (brometo 12-metacriloiloxi dodecilpiridínio) foi incorporado em um compósito à base de BisGMA/TEGDMA (fração de carga: 83% em peso), com frações de 0,1% em peso e 0,2% em peso, o crescimento de *S. mutans* na superfície do compósito foi inibido por até 90 dias, sem efeitos significativos sobre as propriedades flexurais do compósito (Imazato, Torii et al. 1994). O mecanismo de ação destes monômeros antibacterianos é que o amônio quaternário afetaria a membrana celular da bactéria, o que provocaria a sua morte (Antonucci, Zeiger et al. 2012).

QAMs também foram incorporados à compósitos experimentais associados à nanopartículas de polietilenoimina (140 nm). Devido à sua carga positiva, essas nanopartículas (QPEI) são atraídas pela membrana celular bacteriana. Este desequilíbrio de carga aumenta a permeabilidade da célula, o que leva à ruptura da membrana celular (Pietrokovski, Nisimov et al. 2016). A incorporação de 1% em peso destas nanopartículas em compósito comerciais não reduziu suas propriedades mecânicas iniciais e inibiu o crescimento de *S. mutans* e *A. viscosus* por até quatro semanas (Beyth, Yudovin-Farber et al. 2006).

Outro exemplo de um monômero antibacteriano funcionalizado com metacrilato é o dimetilaminohexadecil metacrilato (DMAHDM). Este foi testado em associação com biopolímero repelente-proteínas 2-metacriloiloxi-etilfosforilcolina (MPC), que

reduz a adsorção bacteriana na superfície do compósito. Compósitos contendo 70% em peso de partículas de vidro e 1,5% em peso de DMAHDM, associado a 3% em peso de MPC apresentaram maior atividade antibacteriana contra bactérias cariogênicas e periodontopatogênicas do que o compósito sem esses componentes. As propriedades mecânicas não foram afetadas pela presença de qualquer dos compostos (Zhang, Ma et al. 2015). No entanto, o MPC é hidrofílico e sua presença aumenta significativamente a sorção de água pelo compósito, o que pode acelerar a degradação da matriz (Wang, Xie et al. 2016).

Partículas de vidro bioativo (BAG) também foram avaliadas como agentes antibacterianos em compósitos odontológicos. Um compósito experimental à base de BisGMA/TEGDMA com 57% em peso de partículas de reforço e 15% em peso de partículas de BAG (0,04-3 μm , SiO_2 , CaO e P_2O_5) mostram reduzir a penetração bacteriana na interface restauração-dente e a desmineralização dentária em comparação ao controle. A hipótese possível para a inibição bacteriana é o aumento local do pH e/ou de alguns íons que podem afetar diretamente as bactérias (Khvostenko, Hilton et al. 2016). Partículas de BAG dopadas com prata (25 μm , SiO_2 , CaO , P_2O_5 , Al_2O_3 , Na_2O , K_2O , Ag_2O) foram adicionadas a um compósito comercial flowable em frações de massa de 5% e 15%, resultando em redução significativa da atividade de *S. mutans*. Como o pH permaneceu estável ao longo do estudo, a atividade antibacteriana foi atribuída à liberação de prata iônica (Ag^+) pelo material (Chatzistavrou, Velamakanni et al. 2015).

Embora compostos contendo compostos de prata ou nanopartículas de prata metálica (Ag^0) apresentem grande eficácia contra bactérias sem comprometer as propriedades mecânicas do material (Cheng, Zeiger et al. 2011), sua presença mesmo em baixas concentrações provoca escurecimento significativo do compósito (Fan, Chu et al. 2011). Partículas de óxido de zinco têm mais semelhança com a cor do esmalte e possuem atividade antibacteriana, provavelmente devido à liberação de Zn^{2+} , que inibe o metabolismo dos açúcares e interfere na atividade enzimática das bactérias devido ao deslocamento dos íons Mg^{2+} (Aydin Sevinc and Hanley 2010). Sua eficácia, no entanto, é muito menor do que a da prata. Por exemplo, 10% em peso de nanopartículas de ZnO (40-100 nm) adicionadas a um compósito comercial mostrou menor inibição de *Streptococos* em comparação a 1% em peso de prata (Aydin Sevinc and Hanley 2010). Em outro estudo, a incorporação de até 5% em peso de nanopartículas de ZnO (20 nm) em um compósito comercial flowable inibiu

significativamente o crescimento de *S. mutans* em espécimes não envelhecidos e envelhecidos por 48 horas. Contudo, espécimes envelhecidos por uma semana e quatro semanas não mostraram qualquer efeito inibitório (Tavassoli Hojati, Alaghemand et al. 2013).

A clorexidina (CHX) também foi investigada como agente antibacteriano em compósitos. Os sais da clorexidina não são solúveis na matriz resinosa e tendem a formar aglomerados relativamente grandes que afetam negativamente as propriedades mecânicas do compósito (Cheng, Weir et al. 2012). Para superar esses problemas, a CHX foi carregada em nanopartículas de sílica mesoporosa (MSNs), o que resultou em melhora das propriedades mecânicas em comparação a materiais contendo apenas CHX. Além disso, o compósito com MSNs apresentou uma superfície menos rugosa e permitiu uma liberação controlada de CHX a longo prazo (Zhang, Wu et al. 2014).

4.7 Considerações finais: Podem todas essas estratégias coexistirem?

Algumas das estratégias acima podem ser mutuamente excludentes porque existe limites práticos para a adição de múltiplos compostos químicos, especialmente para formulação de um material fotopolimerizável. Além disso, para materiais auto-adesivos pode haver prazos de validade limitados devido à associação de reagentes. No entanto, as duas estratégias para produzir compósitos mais resistentes podem ser compatíveis, com a incorporação das fibras e cápsulas auto-reparativas à matriz resinosa. Apesar do grande potencial de compósitos bulk-fill, a utilização de compósitos com atividade antibacteriana e/ou remineralizante com a função de base pode ser desejável. Parece inevitável que algum tipo de meio-termo seja necessário entre a aplicação simples e o número de funcionalidades desejáveis e possíveis em um mesmo material. É importante que alguma dessas estratégias avancem de estudos *in vitro* para *in situ*, e depois para estudos clínicos controlados. Enquanto isso, com os atuais compósitos disponíveis, é essencial aplicá-los de forma otimizada, particularmente com atenção à fotopolimerização. As consequências de não se observar este cuidado podem trazer sérios riscos à longevidade das restaurações. Mas isso é outra história.

5 CAPÍTULO 2: DESENVOLVIMENTO DE PARTÍCULAS DE FOSFATO DE CÁLCIO FUNCIONALIZADAS COM DERIVADOS DO DIMETACRILATO DE ETILENO GLICOL PARA USO ODONTOLÓGICO

5.1 Introdução

A eficácia de compósitos contendo ortofosfatos de cálcio na remineralização de lesões iniciais de cárie em esmalte foi demonstrada *in vitro* (Langhorst, O'Donnell et al. 2009). Um estudo *in situ*, demonstrou que um compósito contendo fosfato de cálcio amorfo (ACP) foi capaz de reduzir a perda de mineral ao redor do esmalte na presença de biofilme cariogênico (Melo, Weir et al. 2013). Além de favorecer um ambiente supersaturado que pode promover a remineralização, compósitos contendo CaP aumentam a reserva de Ca-F no biofilme, mecanismo importante para reduzir a desmineralização (Vogel, Schumacher et al. 2008, Souza, Tenuta et al. 2016).

A incorporação de partículas de fosfato de cálcio em resinas compostas resulta na redução significativa da resistência à fratura e tenacidade à fratura devido à falta de interação química as partículas e a matriz resinosa, o que facilita a propagação de trincas através da interface matriz-partícula (Xu and Moreau 2010, Chiari, Rodrigues et al. 2015). Partículas de fosfato de cálcio podem ser modificadas com o objetivo de minimizar esta desvantagem, para melhorar o embricamento micromecânico com a matriz resinosa (Sachdeva, Goswami et al. 2016) e/ou promover a interação química com o monômero da matriz, por exemplo, via funcionalização com ácido carboxílico (Arcis, Lopez-Macipe et al. 2002) ou silanização (Xu, Weir et al. 2007).

Recentemente, a síntese de partículas de fosfato dicálcico dihidratado (DCPD, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) funcionalizadas com dimetacrilato de trietileno glicol (TEGDMA) foi relatada (Rodrigues, Hower et al. 2014). O DCPD apresenta índice de refração semelhante ao vidro de bário (Anthony, Bideaux et al. 2000, Shortall, Palin et al. 2008), o que é vantajoso em relação à fotoativação e estética do material restaurador. A sua maior solubilidade quando comparado a outras fases do ortofosfato de cálcio (Dorozhkin 2013) permitiria liberação de íons em concentrações suficientes para promover a remineralização em materiais com baixo conteúdo volumétrico de DCPD. Durante a síntese, o TEGDMA pode se ligar ao Ca^{2+} através de ligações íon-dipolo envolvendo átomos de oxigênio dos grupos etileno glicol (Yoshida Z 1987). Partículas de DCPD funcionalizadas com TEGDMA foram adicionadas a uma matriz resinosa à base de BisGMA/TEGDMA contendo ou não partículas de vidro. Aumentos de 30-40%

na resistência à fratura foram observados quando comparado a materiais contendo DCPD não funcionalizado (Alania, Chiari et al. 2016, Rodrigues, Xavier et al. 2016). Como o TEGDMA é relativamente hidrofílico (Kalachandra S 1991, Sideridou, Tserki et al. 2003), a funcionalização não impede o acesso da água ao CaP, o que mantém a liberação de íons em níveis semelhante a materiais contendo DCPD não funcionalizado (Rodrigues, Xavier et al. 2016). Uma parte do DCPD é representada por aglomerados de nanopartículas envolvidas por polímero e estes aglomerados comportaram-se como partículas de baixo módulo de elasticidade, possivelmente contribuindo para a redução da tensão de polimerização em materiais resinosos (Condon and Ferracane 2000, Goncalves, Pfeifer et al. 2008).

A hidrofília dos derivados do dimetacrilato de etileno glicol (EGDMA) aumenta com o número com o número de unidades de etileno glicol (EG) (Kalachandra S 1991). Além disso, a disponibilidade de átomos de oxigênio é afetada pelo comprimento da cadeia espaçadora, não apenas pelo número de átomos de oxigênio, mas pelo fato de moléculas mais longas poderem assumir configurações tridimensionais mais complexas. Portanto, o uso de diferentes monômeros derivados de EGDMA pode afetar o conteúdo final de monômero na partícula, bem como a liberação de íons a partir de materiais à base de resina.

O presente estudo investigou o efeito de diferentes derivados do EGDMA como agentes funcionalizantes de partículas de DCPD. As partículas foram sintetizadas, caracterizadas e adicionadas a uma matriz resinosa à base de dimetacrilatos. Os materiais resultantes foram testados quanto a propriedades mecânicas, grau de conversão e liberação de íons. A hipótese nula global foi que a funcionalização do DCPD não afetou as variáveis testadas.

5.2 Materiais e Métodos

5.2 1 Síntese e caracterização das partículas

Partículas de DCPD foram sintetizadas através do método de co-precipitação usando soluções de nitrato de cálcio $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ e di-hidrogênio fosfato de amônio $[(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_3]$ (0,2 M) como precursores (Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, USA). Para a síntese de partículas funcionalizadas, os derivados de EGDMA (Figura 5.1)

foram adicionados à solução de di-hidrogênio fosfato de amônio na relação molar de 1:1 e 2:1. A solução de nitrato de cálcio foi gotejada na solução de di-hidrogênio fosfato de amônio com ou sem monômeros e mantida sob agitação por 24 horas. Uma síntese adicional foi realizada sem a adição de monômero às soluções precursoras. Para a remoção do subproduto da síntese e o excesso de funcionalizante, o sobrenadante foi descartado e a mistura foi filtrada sob vácuo. O gel resultante foi liofilizado e um pó branco foi obtido.

A fase do ortofosfato de cálcio formada foi identificada através da difração de raio-X (DRX). Os difratogramas foram obtidos empregando-se a radiação $\text{CuK}\alpha$ com filtro de níquel utilizando 40 kV e 30 mA (DRX-7000 Maxima, Shimadzu, Kyoto, Japão). A geometria do equipamento foi de $\theta/2\theta$ e os dados foram coletados com leituras contínuas entre os ângulos de 10° a 60° com tempo de contagem de $2^\circ/\text{min}$. A fração em massa de monômero na partícula foi calculada segundo o conteúdo de carbono determinado através de análise elementar (modelo 240 CHN, Perkin-Elmer, Waltham, MA, USA). As partículas foram observadas através de microscopia eletrônica de transmissão (80 kV, MET, JEOL, modelo 1010, Tóquio, Japão) e o comprimento do longo eixo ($n=100$) das partículas foi mensurado usando um software ImageJ (National Institute of Health, Bethesda, MD, EUA).

A área superficial foi calculada com base nas isotermas de adsorção de nitrogênio usando o método BET (Brunauer, Emmet e Teller) (Nova 1100e, Quantachrome Instruments, Boynton Beach, FL, USA). A camada funcionalizante foi removida através de ciclos de lavagens em acetona em ultrassom para determinar apenas a área superficial da partícula de ortofosfato de cálcio. A distribuição do tamanho dos aglomerados foi determinada através do DLS (difração de luz laser) (Mastersizer 2000, Malvern Instruments Ltd., Malvern, UK). A micromorfologia das partículas foi observada através de microscopia eletrônica de varredura (Quanta FEG600, Eindhoven, Holanda) e a sua densidade aparente foi determinada em um picnômetro a hélio (Ultracyc1200e, Quantachrome Instruments, Boynton Beach, FL, USA).

Figura 5.1 - Fórmula estrutural do dimetacrilato etileno glicol, com “n” representando o número de unidades de moléculas de etileno glicol. n=1, dimetacrilato etileno glicol (EGDMA, 198,22 g/mol); n=2, dimetacrilato dietileno glicol (DEGDMA, 242,27 g/mol); n=3, dimetacrilato trietileno glicol (TEGDMA, 286,32 g/mol) e n=4, dimetacrilato tetraetileno glicol (TETDMA, 330,37 g/mol).

5.2.2 Materiais resinosos contendo partículas de DCPD

Partículas com alto conteúdo de monômero e alta área de superfície foram selecionadas para a segunda fase do estudo, juntamente com partículas de DCPD não-funcionalizado. A matriz resinosa contendo quantidades equimolares de BisGMA (dimetacrilato de glicidila bisfenol A) e TEGDMA (dimetacrilato de trietileno glicol) e 0,5% em peso de canforoquinona e etil-4-dimetilamino benzoato como fotoiniciadores foi preparada. À matriz resinosa foi adicionado 30% em volume de partículas, que foram misturadas através de um misturador mecânico a vácuo (Speedmixer DAC 150.1 FVZ-K, Flak Tek Inc., Landrum, SC, EUA).

5.2.3 Grau de conversão

O grau de conversão foi determinado através de espectroscopia no infravermelho médio (Vertex 70, Bruker Optics, Germany) com acessório de reflectância total atenuada (ATR, MIRacle Pike Technologies, Madison, WI). O material não-polimerizado foi inserido em um molde de silicone (5mm de diâmetro e 1mm de espessura) e colocado sobre um cristal de diamante, e o espectro foi obtido pela coadição de 32 scans, com resolução de 4 cm^{-1} . Após a fotoativação (Bluephase, Ivoclar-Vivadent, Schaan, Liechtenstein, 24 J/cm^2) e armazenamento por 24 horas a 37°C , um novo espectro foi obtido da mesma maneira, assegurando um contato íntimo entre

o compósito e o cristal de ATR. O grau de conversão foi calculado de acordo com a razão entre as áreas das bandas de absorção correspondente a dupla ligação de carbono localizadas em 1.638 cm^{-1} (alifática) e 1.610 cm^{-1} (aromática) segundo a equação (n=3):

$$GC = \left(1 - \frac{\text{polimerizado}}{\text{não polimerizado}}\right) \times 100$$

5.2.4 Propriedades mecânicas

Discos (12 x 1 mm, n=10) foram confeccionados com o auxílio de uma matriz de aço bipartida e cada quadrante foi fotopolimerizado por 20 s (24 J/cm^2 por quadrante, Bluephase, Ivoclar Vivadent). A resina sem carga foi testada como controle. Após 24 horas de armazenamento em água destilada a 37°C , espécimes foram fraturados em um dispositivo do tipo pistão sobre três esferas em uma máquina universal de ensaios (modelo 5565, Instron Corp, Canton MA, USA). A carga foi aplicada no centro do corpo-de-prova a uma velocidade de $0,5\text{ mm/min}$ e a deflexão no centro do disco foi monitorada por um transdutor (modelo W-E401-E, Instron). A resistência à flexão biaxial (MPa) foi calculada a equação a seguir:

$$\sigma_{BI} = \frac{-0,2387P(X - Y)}{b^2}$$

$$X = (1 + \nu) \ln\left(\frac{r_2}{r_3}\right)^2 + \left[\left(\frac{1 - \nu}{2}\right)\right] \left(\frac{r_2}{r_3}\right)^2$$

$$Y = (1 + \nu) \left[1 + \ln\left(\frac{r_1}{r_3}\right)^2\right] + (1 - \nu) \left(\frac{r_1}{r_3}\right)^2$$

Onde, P é a carga de fratura (em N); b é a altura (espessura) do corpo de prova (em mm); ν é uma constante para todos os compósitos ($\nu=0,3$), r_1 é o raio de apoio para as esferas de aço (5 mm), r_2 é o raio da área carregada (0,6 mm) e r_3 é o raio da amostra (em mm).

O módulo flexural foi calculado de acordo com a equação a seguir:

$$E = \frac{\beta P a^2}{\omega h^3} \times 0,001$$

Onde E é o módulo de elasticidade (em GPa), β é uma constante relacionada à deflexão do disco na região central (0,509), P é a carga aplicada (em N), a é o raio do disco (em mm), w é a deflexão no centro que corresponde à carga P e h é a espessura do disco (em mm).

5.2.5 Liberação de íons

Discos (5 x 1 mm, n=5) foram confeccionados utilizando-se um molde de silicone. Uma única irradiação de 20 segundos foi usada para fotoativar o material (24 J/cm², Bluephase, Ivoclar-Vivadent). Após 24 horas de armazenamento a 37°C sob umidade relativa de 100%, espécimes foram individualmente imersos em 5 ml de solução de NaCl (133 mmol/L), tamponada em pH 7 com solução HEPES (50 mmol/L). O meio de imersão foi totalmente substituído por nova solução semanalmente, por quatro semanas. As concentrações de cálcio e fosfato nas soluções coletadas foram avaliadas pelo método colorimétrico (DU 800 Espectrofotômetro Beckman Coulter, Brea, CA – USA).

5.2.6 Análise estatística

Os dados de grau de conversão foram analisados através de ANOVA de um fator. Propriedades mecânicas e liberação de íons através de Kruskal-Wallis, comparações múltiplas realizadas através do teste de Dunn. Em todos os casos, o nível de significância foi de 5%.

5.3 Resultados

5.3.1 Caracterização das partículas

A caracterização das partículas é apresentada na **Tabela 5.1**. Difrátogramas (Figura 5.2) mostram que todas as partículas apresentaram picos característicos do DCPD (Centro internacional de dados de difração/comitê de difração de pó, PDF #09/007). Partículas funcionalizadas apresentaram alto valor de largura à meia-altura (*full width at half maximum*, FWHM) em relação às partículas não funcionalizadas, o que indica um menor tamanho de cristalito. Na nanoescala, aglomerados de nanopartículas foram observados com longo eixo variando entre 42 nm a 142 nm (Figura 5.3). Na microescala, partículas e aglomerados de nanopartículas com tamanho médio variando entre 12 µm e 26 µm foram observados (Figura 5.4).

A maior retenção de funcionalizante foi alcançada com a adição de DEGDMA 1:1. EGDMA (1:1 e 2:1) e TETDMA 1:1 apresentaram menores taxas de retenção em comparação com as outras condições testadas. Para $2 \geq EG \geq 4$, o conteúdo orgânico nas partículas foi inversamente relacionado ao comprimento do grupo espaçador. A adição de maior proporção de monômero resultou em área de superfície maior, exceto para DEGDMA, que apresentou menor densidade.

Tabela 5.1 - Caracterização das partículas sintetizadas no estudo

Agentes funcionalizante	Monômero: $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$	Largura à meia-altura (FWHM)*	Longo eixo das nanopartículas (nm)**	Conteúdo orgânico (em peso %)	Densidade (g/cm^3)	Área superficial (m^2/g)	Diâmetro esférico equivalente (D_{50} , μm , D_{10} - D_{90} parênteses)
não-funcionalizada	N/A	0,150	142 (61)	N/A	2,4	28	25 (13-50)
EGDMA	1:1	0,188	111 (69)	0,6	2,5	25	26 (14-51)
	2:1	0,254	86 (36)	1,3	2,4	43	25 (12-56)
DEGDMA	1:1	0,181	83 (40)	34,4	1,7	40	12 (6-23)
	2:1	0,217	111 (46)	30,3	1,8	66	20 (11-47)
TEGDMA	1:1	0,257	70 (40)	14,1	2,2	16	19 (10-37)
	2:1	0,188	136 (60)	27,2	1,9	55	20 (11-52)
TETDMA	1:1	0,179	42 (18)	0,8	2,4	10	17 (9-30)
	2:1	0,200	91 (36)	12,9	2,2	63	16 (8-27)

N/A: Não aplicável

*FWHM representa a largura do pico de maior intensidade no difractograma ($10,5^\circ$) mensurado os valores no eixo y correspondente a metade da sua amplitude máxima. Valores maiores correspondem a tamanhos menores de cristalito.

**Obtidos a partir das imagens de MET, média e desvio-padrão em parênteses (n=100).

Figura 5.2 - Difrátogramas das partículas de fosfato de cálcio obtidas com a adição de diferentes monômeros de dimetacrilato etileno glicol à solução de fosfato de amônio. À esquerda: proporção molar de monômero para o fosfato de amônio de 1:1, direita: razão molar de 2:1.

Figura 5.3 - Exemplo de imagens de microscopia eletrônica de transmissão mostrando aglomerados de nanopartículas em formato de placa obtidos em diferentes condições de síntese. A) DEGDMA 1:1, B) TETDMA 1:1, C) TEGDMA 2:1 e D) partículas não-funcionalizadas.

Figura 5.4 - Exemplo de imagens de microscopia eletrônica de varredura obtidas em diferentes condições de síntese. A) DEGDMA 1:1, B) TEGDMA 1:1, C) TETDMA 1:1 e D) Partículas não-funcionalizadas.

5.3.2 Materiais resinosos contendo DCPD

O grau de conversão não foi afetado pela presença de DCPD, com valores que variaram entre 49% e 56% ($p > 0,05$, Tabela 5.2). Os resultados das propriedades flexurais são apresentados na Figura 5.5. Entre os materiais contendo DCPD, o DEGDMA 2:1 apresentou maior resistência à fratura, 39% maior do que o material não funcionalizado ($p < 0,001$). Por outro lado, materiais com DCPD resultou em módulo flexural 19-26% menor do que aqueles materiais não funcionalizados ($p < 0,001$).

A liberação de cálcio não foi afetada pela funcionalização das partículas e permaneceu relativamente constante durante o período de 28 dias ($p>0,05$, Tabela 5.3). Valores semanais variaram entre 7 ppm e 18 ppm. O fosfato foi liberado em concentrações mais baixas que o cálcio e padrões similares foram observados entre os materiais, a maior concentração foi liberada em 7 dias (média: 4,2 ppm) em comparação com as semanas restantes (médias entre 0,8 ppm e 1,1 ppm). Concentrações semelhantes foram observadas entre os materiais em 7 e 28 dias, enquanto que algumas diferenças foram observadas aos 14 e 21 dias ($p<0,001$).

Tabela 5.2 - Médias e desvios-padrão do grau de conversão (%). Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi detectada entre os materiais (ANOVA de um fator, $p>0,05$).

Não-funcionalizado	DEGDMA 1:1	DEGDMA 2:1	TEGDMA 2:1	TETDMA 2:1
55,9 (6,1)	54,8 (1,7)	51,4 (5,3)	51,4 (2,8)	48,7 (3,7)

Tabela 5.3 - Médias e desvios-padrão para as concentrações de Ca^{2+} e HPO_4^{2-} (em ppm) liberadas por materiais contendo 30% em volume de DCPD em função da funcionalização e do período de imersão. As proporções seguintes aos nomes dos monômeros referem-se à razão “monômero:fosfato de amônio” utilizadas na síntese. Não foram detectadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos para a liberação de cálcio (Ca^{2+}) ($p>0,05$). Para o hidrogeno fosfato (HPO_4^{2-}), letras minúsculas semelhantes indicam ausência de diferença estatisticamente significativas dentro da mesma coluna, e letras maiúsculas, dentro da mesma linha (Kruskal-Wallis/Dunn, $p<0,05$).

		Imersão (dias)			
		7	14	21	28
Ca^{2+}	Não-funcionalizado	8,5 (1,1)	10,0 (4,7)	11,2 (2,9)	14,3 (3,7)
	DEGDMA 1:1	10,9 (3,8)	12,9 (5,8)	17,5 (2,2)	11,4 (2,1)
	DEGDMA 2:1	11,2 (2,1)	12,4 (5,1)	10,8 (3,6)	11,3 (2,3)
	TEGDMA 2:1	9,7 (2,7)	9,9 (2,9)	12,5 (4,1)	13,7 (3,0)
	TETDMA 2:1	11,4 (4,0)	7,0 (1,8)	8,2 (2,7)	9,1 (4,0)
HPO_4^{2-}	Não-funcionalizado	3,9 (1,1) Aa	1,0 (0,2) Bab	1,0 (0,2) Bab	0,9 (0,2) Ba
	DEGDMA 1:1	5,0 (1,3) Aa	1,3 (0,4) ABa	1,3 (0,3) ABa	0,9 (0,3) Ba
	DEGDMA 2:1	5,2 (0,5) Aa	1,2 (0,3) Ba	0,9 (0,2) Bab	0,8 (0,1) Ba
	TEGDMA 2:1	5,3 (1,5) Aa	1,6 (0,4) ABa	1,6 (0,3) ABa	1,0 (0,3) Ba
	TETDMA 2:1	1,7 (0,2) Aa	0,6 (0,1) Bb	0,6 (0,1) Bb	0,5 (0,1) Ba

Figura 5.5 - Médias e desvios-padrão da resistência à flexão biaxial (esquerda) e módulo flexural (à direita) de matérias à base de resina contendo 30% em volume de partículas de DCPD funcionalizadas com diferentes derivados do etileno glicol. A matriz resinosa contendo partículas não-funcionalizadas foram usadas como controle. Os valores acompanhados da mesma letra não são estatisticamente diferentes (testes de Kruskal-Wallis/Dunn, $p > 0,05$).

5.4 Discussão

5.4.1 Caracterização das partículas

A utilização de diferentes monômeros derivados do EGDMA afetou a síntese das partículas. Embora todas as partículas apresentem forma de placas (Rodrigues, Hwer et al. 2014), a adição de monômeros derivados do EGDMA resultou em cristalitos menores em comparação ao controle não funcionalizado devido à redução da tensão superficial durante o processo da reação, o que favorece a nucleação dos cristais (Mehta, Chaudhary et al. 2009). O papel dos monômeros derivados do EGDMA como co-solventes durante a precipitação do DCPD parece ser independente da sua retenção na superfície das partículas uma vez que, por exemplo, o EGDMA reduziu o tamanho dos cristalitos mas não se ligou ao Ca^{2+} . Além disso, foram observados cristalitos 25% - 54% menores para $\text{EG} \geq 2$ na proporção de 1:1, provavelmente porque na proporção de 2:1 o aumento da viscosidade no meio da reação diminuiu a difusão iônica, compensando parcialmente o efeito da tensão superficial reduzida.

A baixa retenção do monômero EGDMA na partícula sugere que os átomos de oxigênio adjacentes aos grupos metacrilato não estão suficientemente expostos para se ligarem ao íon cálcio. Por outro lado, TEGDMA e TETDMA mostraram retenção significativa somente quando adicionados na proporção 2:1, possivelmente porque suas estruturas tridimensionais complexas reduzem a probabilidade da interação do oxigênio com o cálcio. As altas taxas de retenção apresentadas pelo DEGDMA (30-34% em peso), mesmo na proporção 1:1, podem ser atribuídas ao comprimento intermediário do espaçador da cadeia e à presença de um átomo de oxigênio central.

A funcionalização das partículas aumentou a área superficial apenas para aqueles com relação molar entre o monômero funcionalizante e fosfato de amônio di-hidrogênio 2:1. Provavelmente, o alto teor de monômero inibiu parcialmente o crescimento das partículas e/ou aumentou o espaço entre elas, impedindo seu contato direto e o empilhamento das placas. De fato, os valores de densidade e as imagens de MET sugerem que os aglomerados de nanopartículas de DCPD funcionalizados são menos adensados em comparação aos aglomerados não funcionalizados (Figura 5.6). As menores áreas superficiais de partículas funcionalizadas com TEGDMA e TETDMA sintetizadas na proporção de 1:1 podem ser o resultado da remoção incompleta do monômero após a sonicação em acetona. Embora a remoção tenha sido verificada através da espectroscopia no infra-vermelho, esta técnica pode não ser sensível o suficiente para detectar quantidades muito pequenas de material orgânico residual. No entanto, a relação entre o tamanho das nanopartículas e a área de superfície não pode ser totalmente desconsiderada, já que a síntese usando EGDMA 2:1 resultou em nanopartículas 39% menores e área superficial 54% maior comparado a partícula não funcionalizada.

No geral, a distribuição do tamanho das partículas apresentou valores semelhantes aos relatados em estudos prévios (Alania, Chiari et al. 2016, Rodrigues, Xavier et al. 2016). Valores de mediana mais baixos (entre 20% e 50%) foram observadas para partículas funcionalizadas com monômero EG ≥ 2 . A única exceção foi para as partículas sintetizadas com TETDMA (1:1), que mostraram partículas 32% menores do que o DCPD não funcionalizado, embora seu conteúdo orgânico tenha sido de apenas 0,8% em peso. Neste ponto, é importante destacar o fato de que as sínteses não produziram apenas nanopartículas e a distribuição do tamanho descreve tanto aglomerados de nanopartículas como partículas micrométricas. Os dimetacrilatos são moléculas apolares e, portanto, não contribuem para reduzir a

aglomeração ou impedir o crescimento das partículas, assim como espécies orgânicas contendo grupos ionizantes tais como ácidos carboxílicos (Domingo, Arcis et al. 2001).

5.4.2 Materiais resinosos contendo partículas de DCPD

Os valores relativamente baixos de grau de conversão se devem à técnica usada para obter os espectros. O fato do feixe infra-vermelho interagir com amostra na interface entre o cristal de ATR e o compósito, faz com que o espectro resultante seja ligeiramente diferente do obtido no método de transmissão, por exemplo. No entanto, os valores de grau de conversão permanecem válidos para fim de comparação (Rueggeberg, Caughman et al. 1999). Materiais resinosos contendo DCPD apresentaram grau de conversão semelhante à resina sem carga. Portanto, diferenças nas propriedades mecânicas e liberação de íons entre os materiais podem ser atribuídas apenas às características das partículas combinadas com a resina. Os fosfatos de cálcio não são partículas de reforço e a diminuição da resistência verificada quando partículas de DCPD foram incorporadas à resina à base de BisGMA-TEGDMA era esperada (Xu and Moreau 2010). Os materiais contendo DCPD testados nesse estudo não foram modelados tendo como referência compósitos restauradores com alto conteúdo de carga. Na verdade, eles foram preparados para ressaltar o possível ganho nas propriedades mecânicas em comparação com o uso de partículas com DCPD não funcionalizadas. De fato, o uso de partículas funcionalizadas com DEGDMA (2:1) levou a um aumento de 39% na resistência em comparação com o material não funcionalizado. O aumento da resistência é o resultado da copolimerização de monômeros da partícula com a matriz resinosa. Além da possibilidade da interação íons-dipolo entre os íons cálcio e o oxigênio do grupo éter (que são considerados mais forte que as forças dipolo-dipolo, por exemplo, ligações de hidrogênio), a funcionalização também reduz a tensão interfacial entre o DCPD e o dimetacrilato da matriz, melhorando o molhamento da superfície da partícula e, portanto, promove um melhor embricamento mecânico entre as duas fases.

Embora o alto teor de monômero pareça ser o principal fator para aumentar a resistência à fratura, é importante chamar atenção para o fato de que quanto maior o conteúdo orgânico da partícula/aglomerado, menor o seu conteúdo real de DCPD. Em outras palavras, o volume da partícula (V_p) pode ser expresso da seguinte forma:

$$V_p = V_{\text{DCPD}} + V_{\text{monômero}} = (m/\rho)_{\text{DCPD}} + (m/\rho)_{\text{monômero}}$$

Onde m é a fração em massa e ρ é a densidade (g/cm^3). Baseado na fração em massa do monômero e valores de densidade é possível calcular o conteúdo efetivo de DCPD nas partículas. Utilizando os valores de densidade 1,082 (DEGDMA), 1,092 (TEGDMA) e 1,082 (TETDMA, todos os valores obtidos da Sigma-Aldrich) e resolvendo a equação para uma massa de partículas igual a 1 g, o conteúdo efetivo de DCPD por volume nas partículas é de 46% (DEGDMA 1:1), 51% (DEGDMA 2:1), 55% (TEGDMA 2:1) e 75% (TETDMA 2:1). Portanto, seria pertinente questionar se as diferenças na resistência à fratura estão refletindo as diferenças do conteúdo efetivo de DCPD. No entanto, imagens de microscopia eletrônica de varredura mostram que a micromorfologia das partículas é similar, independentemente do conteúdo de monômero. Além disso, verificou-se em estudos anteriores que as superfícies de fratura dos espécimes apresentaram características semelhantes, independentemente da funcionalização das partículas (Alania, Chiari et al. 2016). Portanto, deve-se considerar que, embora o conteúdo efetivo de DCPD possa diferir, os aglomerados devem ser considerados partículas individuais.

Os resultados de módulo flexural sugerem que a funcionalização não afetou o comportamento mecânico das partículas e aglomerados de DCPD. De acordo com estudos anteriores, a adição de partículas de fosfato de cálcio à matriz resinosa sem carga apresentou aumento significativo no módulo de elasticidade, uma vez que esta propriedade depende da interação entre partículas, independentemente de sua interação química com a matriz resinosa (Arcis, Lopez-Macipe et al. 2002, Xu and Moreau 2010, Braga, Yamamoto et al. 2012, Rodrigues, Xavier et al. 2016). No entanto, materiais contendo partículas de DCPD funcionalizadas apresentaram módulo flexural 19%-26% menor em comparação a um material não funcionalizado, sugerindo que DCPD funcionalizado se comporta como uma carga de baixo módulo de elasticidade. Considerando que o módulo flexural é um dos determinantes da tensão de polimerização do compósito (Ferracane and Hilton 2016), a redução do módulo flexural pelas partículas pode trazer o benefício adicional de reduzir a tensão em compósitos restauradores.

O fato da liberação de íons cálcio diminuir ao longo de um período de 28 dias também foi investigado anteriormente (Xu, Moreau et al. 2011, Chiari, Rodrigues et al. 2015, Rodrigues, Xavier et al. 2016). De fato, a liberação acumulada de cálcio em um compósito à base de BisGMA e TEGDMA contendo 20% em peso de fosfato de cálcio amorfo atingiu um platô após 35 dias (Zhang, Weir et al. 2016). Embora a liberação

não varie linearmente com o conteúdo de fosfato de cálcio (Xu, Weir et al. 2007), uma liberação maior deve ser esperada por um material contendo 30% em volume de DCPD não funcionalizado em comparação com um material contendo DEGDMA 1:1, em que o conteúdo eficaz de DCPD foi de 14% em volume. Entretanto, não foi o caso. É possível que o efeito de um menor conteúdo de DCPD tenha sido compensado pela maior área superficial das partículas e aglomerados (Xu, Weir et al. 2007). Por outro lado, a liberação de fosfato apresentou valores muito mais elevados aos 7 dias em comparação com as semanas subsequentes. Além disso, as concentrações liberadas foram muito menores do que as de cálcio. Esta parece ser uma característica dos fosfatos de cálcio cristalino devido à estrutura tetraédrica dos fosfatos. Além disso, em suas formas hidratadas o fosfato de cálcio átomos de oxigênio estabelecem ligação do hidrogênio com as moléculas estruturais da água, o que dificulta sua liberação (Arsic, Kaminski et al. 2004). É importante mencionar que compósitos experimentais contendo 20% em volume de DCPD funcionalizado com TEGDMA (fração de monômero no aglomerado: 32% em peso) foram capazes de promover 23% de recuperação mineral de lesões de cárie submetidas a um regime de ciclagem de pH *in vitro* (observações não publicadas).

5.5 Conclusão

Em conclusão, entre as partículas de DCPD sintetizadas, aquelas funcionalizadas com DEGDMA apresentaram as características mais favoráveis em termos de teor de monômero e distribuição de tamanho das partículas. Além de resultar em maior resistência em comparação com partículas não funcionalizadas, a funcionalização não prejudicou a liberação de íons. Além disso, a redução do módulo flexural pode ser vantajosa para desenvolver materiais com menores tensões de polimerização, o que merece mais investigações.

Figura 5.6 - Representações esquemáticas de um aglomerado de DCPD não-funcionalizado e um aglomerado de DCPD funcionalizado com DEGDMA. A menor densidade e a maior área superficial das nanopartículas sugerem uma estrutura menos compacta para as últimas.

6 CAPÍTULO 3: PROPRIEDADES MECÂNICAS E LIBERAÇÃO DE ÍONS DE COMPÓSITOS DENTÁRIOS BIOATIVOS CONTENDO PARTÍCULAS DE FOSFATO DE CÁLCIO

6.1 Introdução

Compósitos resinosos contendo partículas de ortofosfato de cálcio (CaP) são capazes de promover a remineralização de lesões de cárie em esmalte *in vitro* (Langhorst, O'Donnell et al. 2009), bem como inibir o desenvolvimento de novas lesões *in situ* (Melo, Weir et al. 2013). Além disso, eles foram testados como cimentos ortodônticos (Liu, Zhang et al. 2018), em tratamento restaurador atraumático (ART) (Peters, Bresciani et al. 2010) e em sistemas adesivos (Melo, Cheng et al. 2013). Infelizmente, as propriedades mecânicas destes materiais bioativos são geralmente menores que aquelas apresentadas por compósitos comerciais devido à fraca interação entre as partículas de CaP e a matriz resinosa, que faz com que eles se comportem como concentradores de tensões e facilita a propagação de trinca dentro do compósito (Xu and Moreau 2010, Chiari, Rodrigues et al. 2015).

A síntese de partículas de fosfato di-cálcico di-hidratado (DCPD) funcionalizadas com dimetacrilato de trietileno glicol (TEGDMA) foi descrita como uma nova estratégia para melhorar a sua resistência interfacial com a fase resinosa (Rodrigues, Hewer et al. 2014). O TEGDMA é encontrado nas formulações de resinas compostas comerciais e, quando adicionado a uma das soluções precursoras de íons (funcionalização *ab initio*), pode estabelecer ligações íon-dipolo com íons cálcio dos cristais de DCPD em crescimento via grupos etileno glicol (-O-CH₂-CH₂) (Yoshida Z 1987, Morra 1993). Adicionalmente, a funcionalização melhoraria o molhamento das partículas pela fase resinosa, contribuindo para um melhor imbricamento mecânico. De fato, um material à base de dimetacrilato contendo partículas de DCPD funcionalizadas com TEGDMA apresentou resistência à fratura 32% maior em comparação a um material contendo partículas não funcionalizadas (Rodrigues, Xavier et al. 2016).

O conteúdo final de TEGDMA na partícula pode ser modulado variando a quantidade de monômero adicionado à síntese. Embora o maior conteúdo de TEGDMA possa melhorar o comportamento mecânico do compósito (Rodrigues, Chiari et al. 2018), pode afetar outras propriedades também. Por exemplo, compósitos

contendo partículas de DCPD com fração em massa de TEGDMA superior a 14% (determinada por análise elementar) mostrou grau de conversão maior do que o material com partículas não-funcionalizadas. A mobilidade molecular do TEGDMA devido à presença de ligações éter aumenta a probabilidade de crescimento da cadeia polimérica e, embora essa mobilidade seja provavelmente reduzida pelo fato desses monômeros serem anexados à superfície do DCPD, regiões ricas em TEGDMA criadas em torno dos núcleos de DCPD parecem contribuir para a conversão do material (Alania, Chiari et al. 2016). Considerando a relação linear entre o grau de conversão e a contração de polimerização (Shah and Stansbury 2014), é possível que o uso de DCPD funcionalizado com TEGDMA resulte em um aumento indesejável da tensão de polimerização, o que comprometeria a integridade da interface dente/restauração (Braga, Ballester et al. 2005).

A funcionalização de partículas de DCPD com outros derivados do dimetacrilato de etileno glicol (EGDMA) resultaram em partículas com diferentes áreas superficiais e distribuição de tamanho, dependendo do tamanho do grupo espaçador (isto é, número de grupos etileno glicol) (Natale, Rodrigues et al. 2018). Quando adicionados a uma das soluções precursoras, os derivados de etileno glicol atuam como co-solventes, o que altera a tensão superficial do meio reacional. Isso, por sua vez, afeta a nucleação de cristais e, conseqüentemente, as características da partícula final (Rodrigues, Chiari et al. 2018). Como exemplo, partículas funcionalizadas com dimetacrilato de dietileno glicol (DEGDMA) apresentaram o maior conteúdo de monômero e área superficial, e o menor tamanho de partículas em relação ao DCPD não-funcionalizado ou aqueles funcionalizados com EGDMA, TEGDMA ou TETDMA (dimetacrilato de tetraetilenoglicol). Portanto, é importante verificar o efeito dessas partículas de DCPD funcionalizadas com DEGDMA nas propriedades mecânicas e contração de polimerização de compósitos experimentais.

A eficácia de materiais restauradores remineralizantes depende de uma liberação de íons que seja sustentada por períodos prolongados. Infelizmente, a maioria das informações disponíveis mostraram liberações de íons por períodos de tempo relativamente curtos, geralmente 28 dias ou menos (Skrtec, Antonucci et al. 1996, Xu, Weir et al. 2009, Xu and Moreau 2010, Marovic, Tarle et al. 2014, Chiari, Rodrigues et al. 2015, Alania, Chiari et al. 2016). Ainda assim, é possível encontrar estudos que verificaram a ocorrência de liberação de íons em períodos mais longos, de 56 dias (Xu, Weir et al. 2007, Xu, Weir et al. 2010) e 70 dias (Zhang, Weir et al. 2016). Como

a liberação de íons implica na dissolução da superfície da partícula, em teoria, esta liberação em longo prazo poderia aumentar a passagem de água na interface partícula-matriz, o que comprometeria a estabilidade de compósitos contendo CaP.

A degradação de compósitos está relacionada à presença de grupos éster (-COO-) nas estruturas do monômero, submetidas à oxidação e hidrólise quando em contato com a saliva e outros fluidos (Santerre, Shajii et al. 2001). A degradação da interface entre a matriz resinosa e partículas reduz o módulo de elasticidade do compósito (Ferracane, Hopkin et al. 1995), resistência à flexão biaxial (Drummond and Miescke 1991, Arikawa, Kuwahata et al. 1995) e tenacidade à fratura (Truong and Tyas 1988, Ferracane, Hopkin et al. 1995). Poucos estudos avaliaram a degradação de compósitos contendo CaP. Materiais contendo 10% ou 20% (em peso) de fosfato de cálcio amorfo (ACP) em um conteúdo inorgânico total de 75% (ACP + partículas de vidro) não diferiram do grupo controle em relação à resistência à fratura após dois anos em água (Moreau, Weir et al. 2012). Por outro lado, compósitos contendo 10% ou 20% (em volume) de DCPD não-funcionalizado e um conteúdo inorgânico total de 60% em volume apresentaram redução mais severa na resistência à flexão, módulo flexural e tenacidade à fratura após 28 dias em água em relação ao controle (sem DCPD) (Chiari, Rodrigues et al. 2015).

Com base no exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o comportamento de compósitos experimentais contendo partículas de DCPD funcionalizadas quanto às propriedades mecânicas, contração volumétrica, grau de conversão e liberação de íons ao longo de 60 dias. A degradação dos materiais foi indiretamente avaliada através da comparação das propriedades mecânicas após 24 horas e 60 dias em água. As hipóteses do trabalho foram: 1) propriedades mecânicas dos compósitos (resistência à flexão biaxial, módulo flexural e tenacidade à fratura) melhorariam com o uso de partículas de DCPD funcionalizadas em comparação com as partículas de DCPD não-funcionalizadas, 2) a presença de DCPD (funcionalizado ou não) não aumentaria a degradação dos compósitos após armazenamento prolongado em água, 3) o maior conteúdo orgânico total em compósitos contendo DCPD funcionalizado aumentaria o grau de conversão e contração volumétrica em relação ao controle e o compósito com DCPD não-funcionalizado e 4) a funcionalização do DCPD não interferiria na liberação de íons do compósito.

6.2 Materiais e Métodos

6.2.1 Formulação do compósito

A fase resinosa do compósito experimental consistiu de uma mistura de BisGMA/TEGDMA (1:1 em mols, todos os produtos químicos da Sigma Aldrich, St Louis MI, EUA), além de canforoquinona e 2-dimetilaminoetil metacrilato (0,5% em peso) como fotoiniciadores. Quatro diferentes compósitos foram preparados, todos com um total de 60% em volume de partículas de carga. Três deles continham 15% em volume de partículas de DCPD (funcionalizadas com DEGDMA ou TEGDMA, ou não funcionalizadas) e 45% em volume de vidro de bário silanizado (2 μm), enquanto o controle continha apenas partículas de vidro de bário. A síntese das partículas de DCPD foi descrita em detalhes acima e em outro estudo (Rodrigues, Hower et al. 2014). As características das partículas de DCPD estão detalhadas na Tabela 6.1. A resina e as partículas foram misturadas mecanicamente sob vácuo (Speedmixer DAC150.1 FVZ-K, FlackTek Inc., Landrum, SC, EUA) e mantidos sob refrigeração até duas horas antes do uso.

6.2.2 Grau de conversão

O grau de conversão (GC, $n=3$) foi determinado através de espectroscopia no infra-vermelho (Vertex 70, Bruker Optics, Alemanha). O material não-polimerizado foi inserido em um molde de silicone cilíndrico (7 x 1 mm), prensado entre duas lâminas de vidro e este conjunto foi posicionado no suporte do espectrômetro. O espectro do material não polimerizado foi obtido pela co-adição de 32 varreduras, com resolução de 4 cm^{-1} . O material foi fotopolimerizado através da lâmina de vidro (Bluephase, Ivoclar-Vivadent, Schaan, Liechtenstein, 1200 mW/cm^2 por 20s, diâmetro efetivo da fonte de luz: 8 mm) e armazenado a seco por 24 horas a 37 $^{\circ}\text{C}$, antes de um novo espectro ser obtido. O grau de conversão foi calculado de acordo com a razão entre as bandas de absorção correspondentes ao grupo alifático =C-H localizado em 6165 cm^{-1} de acordo com a fórmula:

$$GC = \left(1 - \frac{\text{polimerizado}}{\text{não polimerizado}}\right) \times 100$$

6.2.3 Contração pós-gel

A contração pós-gel foi determinada de acordo com o método da extensometria (Sakaguchi, Versluis et al. 1997). Um volume padronizado de compósito foi pressionado contra a grade do extensômetro e moldado como uma semi-esfera com uma altura de 1,5 mm. As extremidades do extensômetro foram conectadas à interface de uma máquina universal de ensaios (modelo 5565, Instron Corp., Canton, MA, EUA). A aquisição dos dados (10 pontos por segundo) se deu por um software da máquina de ensaios (Blue Hill, Instron). O monitoramento começou 10 s antes da fotoativação (20 s, Bluephase, Ivoclar-Vivadent) e continuou por 5 minutos. Os valores de deformação foram convertidos em porcentagem e a contração volumétrica foi calculada multiplicando esses valores por três.

6.2.4 Resistência à flexão biaxial

Espécimes em forma de disco (12 x 1 mm, n=20) foram confeccionados em uma matriz de aço bipartida. O compósito foi fotoativado a partir do topo, 20 s por quadrante (24 J/cm², Bluephase, Ivoclar-Vivadent), com a fonte de luz em contato com uma tira de poliéster que foi colocada sobre o espécime. Metade das amostras foi armazenada em água a 37 °C por 24 horas, enquanto a outra metade foi armazenada por 60 dias. Os espécimes foram fraturados em um dispositivo do tipo “pistão sobre três esferas” em uma máquina universal de ensaios (Instron modelo 5565, Instron Corp., Canton MA, EUA). A carga foi aplicada no centro do corpo-de-prova a uma velocidade de 0,5 mm/min e a deflexão no centro do disco foi monitorada por um transdutor (modelo W-E401-E, Instron). A resistência à flexão biaxial (RFB, em MPa) foi calculada usando as equações abaixo:

$$\sigma_{BI} = \frac{-0,2387P (X - Y)}{b^2}$$

$$X = (1 + \nu) \ln \left(\frac{r_2}{r_3} \right)^2 + \left[\left(\frac{1 - \nu}{2} \right) \right] \left(\frac{r_2}{r_3} \right)^2$$

$$Y = (1 + \nu) \left[1 + \ln \left(\frac{r_1}{r_3} \right)^2 \right] + (1 - \nu) \left(\frac{r_1}{r_3} \right)^2$$

Onde P é a carga de fratura (em N); b é a altura (espessura) do corpo de prova (em mm); v é uma constante para todos os compósitos (v= 0,3), r₁ é o raio de apoio para as esferas de aço (5 mm), r₂ é o raio da área carregada (0,6 mm) e r₃ é o raio da amostra (em mm).

O módulo flexural (E, em GPa) foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$= \frac{\beta P a^2}{\omega h^3} \times 0,001$$

Onde E é o módulo de elasticidade (em GPa), β é uma constante relacionada à deflexão do disco na região central (0,509), P é a carga aplicada (em N), a é o raio do disco (em mm), w é a deflexão no centro que corresponde à carga P e h é a espessura do disco (em mm). A superfície de fratura dos espécimes foi observada através de microscopia eletrônica de varredura (Quanta 650 FEG, Thermo Fischer Scientific, Hillsboro, OR, USA).

6.2.5 Tenacidade à fratura

A tenacidade à fratura dos compósitos foi determinada através do “método do entalhe”. Espécimes em forma de barra (25 mm x 5 mm x 2 mm, n=20), com um entalhe central de 2,5 mm (feito através de uma lâmina de barbear), foram confeccionados através de uma matriz de aço bipartida. A fotoativação foi realizada pela sobreposição de quatro exposições de 10 segundos em uma das superfícies, com a fonte de luz em contato com uma tira de poliéster que foi colocada sobre o topo do compósito (Bluephase, Ivoclar-Vivadent). Os espécimes foram armazenados em água a 37 °C por 24 horas ou 60 dias e fraturados em um carregamento de flexão em três pontos, com distância entre os apoios de 20 mm e velocidade de carregamento de 0,5 mm/min. Após o teste, o comprimento do entalhe foi determinado utilizando-se um estereomicroscópio. A tenacidade à fratura (K_{IC}, em MPa m^{0,5}) foi calculada usando as seguintes equações:

$$K_{IC} = [(P \times S)/b \times w^{1,5}] \times f(a/w)$$

$$f(a/w) = 3\sqrt{(a/w)} \left\{ \frac{1,99 - (a/w) \times [1 - (a/w)] \times [2,15 - 3,93(a/w) + 2,7(a/w)^2]}{2 \times [1 + 2(a/w)] \times [1 - (a/w)^{3/2}]} \right\}$$

Onde, “a” é a média de seis medidas do entalhe, w é a largura, b é a espessura do corpo de prova (todas as medidas em milímetros), P é a carga de fratura em N e S é a distância entre apoios. Somente os corpos de prova com a razão a/w entre 0,45 e 0,50 serão utilizados para o cálculo de K_{IC} , (em $\text{MPa.m}^{0,5}$).

6.2.6 Liberação de íons

Discos (5 mm x 1 mm, n=3) foram confeccionados usando um molde de silicone. Uma única irradiação de 20 s foi usada para fotoativar o material, com a fonte de luz em contato com uma tira de poliéster colocada sobre o compósito (24 J/cm², Bluephase, Ivoclar-Vivadent). Após 24 horas de armazenamento em umidade relativa de 100% a 37 °C, os espécimes foram imersos em 5 ml de solução de NaCl (133 mmol/L) tamponada em pH 7, utilizando solução HEPES (50 mmol/L) (Xu and Moreau 2010). O meio de imersão foi substituído por nova solução a cada duas semanas, por dois meses. As concentrações de cálcio e fosfato da solução foram determinadas por espectroscopia de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES 700, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA). Antes da análise, a solução foi filtrada (papel filtro: 3 µm) e acidificada com ácido nítrico a 10% (relação em volume de 1:1).

6.2.7 Análise estatística

Após o teste de normalidade (teste de Levene) e homocedasticidade (teste Kolmogorov-Smirnov), os dados foram analisados por ANOVA de um fator (grau de conversão e contração pós-gel) ou ANOVA de dois fatores (propriedades mecânicas e liberação de íons). Teste de Tukey foi usado para comparações múltiplas. O nível de significância adotado foi de 5% em todos os procedimentos estatísticos.

6.3 Resultados

O tipo de partícula de DCPD afetou significativamente o grau de conversão do compósito (Tabela 6.2, $p < 0,001$). O TEGDMA apresentou grau de conversão estatisticamente maior do que os outros materiais, seguido do DEGDMA. O DCPD não funcionalizado obteve grau de conversão semelhante ao material DEGDMA e ao grupo controle. O maior valor de contração pós-gel foi desenvolvido pelo material com DEGDMA, enquanto os outros materiais alcançaram valores estatisticamente semelhantes (Tabela 6.2, $p < 0,001$).

Para a resistência à flexão biaxial, somente a presença ou o tipo de DCPD teve um efeito estatisticamente significativo nos resultados ($p < 0,001$, Tabela 6.3). A resistência à flexão biaxial foi reduzida pela substituição de vidro de bário pelo DCPD; porém, esta redução foi menos severa para o DEGDMA. Após armazenamento prolongado, nenhum dos compósitos testados apresentou mudanças significativas na resistência à flexão biaxial e todos os compósitos contendo DCPD apresentaram resistência semelhante, mas apenas o DEGDMA foi similar ao grupo controle. O módulo de elasticidade foi influenciado pelo tipo/ presença de DCPD e tempo de armazenamento ($p < 0,001$ para ambos, Tabela 6.3), sem interação significativa entre os fatores ($p > 0,005$). O DCPD não funcionalizado apresentou maior módulo flexural inicial do que DEGDMA e TEGDMA, enquanto que após 60 dias, a única diferença foi encontrada entre o TEGDMA e o grupo controle. Todos os compósitos apresentaram redução numérica do módulo flexural após o armazenamento, entre 8% e 26%, mas apenas para o DCPD não funcionalizado a redução foi estatisticamente significativa.

A Figura 6.1 mostra exemplo da superfície de fratura dos espécimes fraturados no teste de resistência à flexão biaxial. É possível observar várias partículas em forma de placa com bordas anguladas. As bordas irregulares dos espécimes de 24 horas (B e C) são sugestivas de fratura coesiva das partículas. Após 60 dias em água, fendas vazias indicam os locais anteriores das partículas de DCPD que foram desalojadas durante a propagação da trinca (D).

O K_{1c} inicial não foi afetado pela funcionalização do DCPD e somente o TEGDMA foi estatisticamente superior ao grupo controle. Após 60 dias em água, o controle apresentou K_{1c} estatisticamente mais baixo comparado ao compósito contendo DCPD

e apenas o TEGDMA mostrou redução estatisticamente significativa do K_{1c} (Tabela 6.4, $p < 0,005$).

Compósitos contendo DCPD funcionalizado apresentaram um comportamento similar quanto à liberação de íons. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada entre os tempos de imersão para um dado compósito, ou entre dois compósitos em um dado momento. Comparado com outros dois compósitos, DCPD não funcionalizado mostrou uma liberação estatisticamente maior somente após os primeiros 15 dias. Além disso, a concentração de cálcio detectada na solução após 15 dias foi estatisticamente maior que aos 45 e 60 dias (Tabela 6.5, $p < 0,001$).

DCPD não-funcionalizado apresentou maior liberação de fosfato que os outros materiais após 15 dias (Tabela 6.6, $p < 0,001$). Após 30 dias, somente o TEGDMA liberou menos fosfato que o DCPD não-funcionalizado. Reduções estatisticamente significantes na liberação de fosfato foram observadas até 45 dias (não funcionalizado e DEGDMA) ou entre 15 e 30 dias apenas (TEGDMA).

Tabela 6.1 - Caracterização das partículas de fosfato di-cálcico di-hidratado

	Conteúdo orgânico (% em peso) ^a	Densidade (g/cm ³) ^b	Área superficial (m ² /g) ^c	Diâmetro esférico equivalente (D ₅₀ , em µm, D ₁₀ -D ₉₀ no parêntese) ^d
DCPD Não-funcionalizado	N/A	2,4	28	25 (13-50)
DCPD-DEGDMA	34,4	1,7	40	12 (6-23)
DCPD-TEGDMA	14,1	2,2	16	19 (10-37)

^a Determinado por análise elementar

^b Determinado por picnometria a hélio

^c Cálculo baseado nas isotermas de adsorção de nitrogênio usando BET (Brunauer, Emmet e Teller).

^d Difração de luz laser.

Tabela 6.2 - Médias e desvios-padrão para grau de conversão (%) e contração pós-gel (%) em compósitos experimentais em função da presença/tipo de partículas de DCPD. Valores seguidos da mesma letra não são estatisticamente diferentes (ANOVA de um fator/teste de Tukey, $p > 0,05$).

	Grau de conversão (%)	Contração pós-gel (%)
Vidro de bário (Controle)	75,9 (0,2) C	1,2 (0,2) B
DCPD-DEGDMA	77,1 (0,7) B	2,2 (0,3) A
DCPD-TEGDMA	78,9 (0,5) A	1,5 (0,4) B
DCPD Não-funcionalizado	76,5 (0,1) BC	1,6 (0,4) B

Tabela 6.3 - Médias e desvios-padrão para resistência à flexão biaxial (MPa) e módulo flexural (GPa) de compósitos experimentais em função da presença/tipo de partículas de DCPD e tempo de armazenamento. Os valores seguidos de mesma letra não são estatisticamente diferentes (letras maiúsculas: colunas, letras minúsculas: linhas, ANOVA de dois fatores/Tukey, $p>0,05$).

	Resistência à flexão biaxial (MPa)		Módulo flexural (GPa)	
	24 h	60 dias	24 h	60 dias
Vidro de bário (Controle)	142,8 (26,5) Aa	125,8 (30,6) Aa	16,6 (3,1) ABa	15,3 (1,1) Aa
DCPD-DEGDMA	113,6 (24,0) Ba	100,2 (21,3) ABa	13,1 (1,8) Ba	11,8 (3,6) ABa
DCPD-TEGDMA	91,4 (10,1) Ca	92,5 (15,8) Ba	13,6 (3,8) Ba	10,2 (2,1) Ba
DCPD Não-funcionalizado	95,3 (12,3) Ca	96,0 (13,0) Ba	17,9 (2,9) Aa	13,3 (1,3) ABb

Figura 6.1 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície de fratura dos espécimes fraturas na resistência à flexão biaxial. A: controle armazenamento de 60 dias; B: DCPD não-funcionalizado, armazenamento de 24 horas; C: DCPD funcionalizado com DEGDMA, armazenamento de 24 horas; D: DCPD funcionalizado com DEGDMA, armazenamento de 60 dias.

Tabela 6.4 - Tenacidade à fratura (K_{Ic}) de compósitos experimentais (média e desvios-padrão, em MPa.M^{0,5}) em função da presença/tipo de partículas de DCPD e tempo de armazenamento. Valores seguidos pela mesma letra não são estatisticamente diferentes (letras maiúsculas: colunas, letras minúsculas: linhas, ANOVA de dois fatores/Tukey, $p>0,05$).

Tenacidade à fratura (MPa.m ^{0,5})	24 horas	60 dias
Vidro de bário (Controle)	1,23 (0,15) Ba	1,0 (0,11) Ba
DCPD-DEGDMA	1,5 (0,34) ABa	1,63 (0,35) Aa
DCPD-TEGDMA	1,71 (0,19) Aa	1,35 (0,2) Ab
DCPD não-funcionalizado	1,52 (0,33) ABa	1,42 (0,21) Aa

Tabela 6.5 - Médias e desvios-padrão para a liberação de cálcio (em partes por milhão) de compósitos experimentais em função do tipo de DCPD e tempo de armazenamento. Valores seguidos pelas mesmas letras não são estatisticamente diferentes (letras maiúsculas: colunas, letras minúsculas: linhas, ANOVA de dois fatores, Tukey, $p>0,05$).

	DCPD não-funcionalizado	DCPD-DEGDMA	DCPD-TEGDMA
15 dias	3,94 (0,8) Aa	1,50 (0,56) Ab	1,74 (0,59) Ab
30 dias	2,59 (0,04) ABa	2,43 (0,48) Aa	2,27 (0,63) Aa
45 dias	1,15 (0,39) Ba	1,74 (0,79) Aa	0,8 (0,49) Aa
60 dias	1,77 (0,6) Ba	1,34 (0,69) Aa	1,5 (0,45) Aa

Tabela 6.6 - Médias e desvios-padrão para a liberação de fosfato (em partes por milhão) de compósitos experimentais em função do tipo de DCPD e tempo de armazenamento. Valores seguidos pelas mesmas letras não são estatisticamente diferentes (letras maiúsculas: colunas, letras minúsculas: linhas, ANOVA de dois fatores, Tukey, $p>0,05$).

	DCPD não-funcionalizado	DCPD-DEGDMA	DCPD-TEGDMA
15 dias	0,71 (0,06) Aa	0,38 (0,07) Ac	0,56 (0,05) Ab
30 dias	0,30 (0,07) Ba	0,2 (0,03) Bab	0,14 (0,01) Bb
45 dias	0,13 (0,03) Ca	0,09 (0,05) Ca	0,12 (0,04) Ba
60 dias	0,17 (0,01) BCa	0,10 (0,02) Ca	0,2 (0,04) Ba

6.4 Discussão

Materiais resinosos contendo partículas liberadoras de íons, como vidro bioativo, silicato de cálcio e fosfato de cálcio, estão sendo investigados por vários grupos de pesquisa como estratégia para remineralizar a camada híbrida (Tay and Pashley 2009), prevenir a degradação hidrolítica/enzimática da interface de união (Tezvergill-Mutluay, Seseogullari-Dirihan et al. 2017) e reduzir as lesões em esmalte ao redor de compósitos restauradores e bráquetes ortodônticos (Melo, Weir et al. 2013, Zhang, Weir et al. 2016). O mecanismo proposto é que os íons cálcio e fosfato liberados pelas partículas criariam um ambiente supersaturado, o que levaria à deposição de apatita (Marovic, Tarle et al. 2014). Outro papel importante atribuído ao cálcio é aumentar a retenção de flúor no biofilme, o que aumenta a disponibilidade deste último íon durante eventos de queda de pH (Vogel, Schumacher et al. 2008).

O DCPD ou brushita tem sido utilizado como matrizes osteocondutoras (isto é, cimentos ósseos) devido à sua metaestabilidade sob condições fisiológicas, o que faz com que seja mais rapidamente reabsorvido do que a hidroxiapatita (Cama, Barberis et al. 2009). Esse comportamento também se traduz em uma maior solubilidade em relação a outros ortofosfatos de cálcio (Dorozhkin 2013) e, portanto, com potencial para liberar íons para uso em odontologia. Outro aspecto de particular interesse na formulação de materiais resinosos fotoativáveis é que o índice de refração do DCPD (1,54-1,55) é muito próximo do dimetacrilato usado na formulação da matriz (1,50 a 1,55). Consequentemente, a transmitância de luz através do material não é comprometida (Rodrigues, Xavier et al. 2016).

Tentativas iniciais de incorporação de partículas de fosfato de cálcio em matrizes resinosas revelaram que, diferentemente das partículas de vidro silanizadas, estas não reforçam o material; na verdade, a resistência à fratura do material foi severamente reduzida (Skrtic, Antonucci et al. 1996). A fraca interação entre o fosfato de cálcio e a matriz resinosa, seja química ou micromecânica, faz com que as partículas se comportem como defeitos e facilitam a propagação da trinca sob baixos níveis de tensão. Além disso, partículas relativamente grandes como as usadas no presente estudo aumentariam ainda mais a probabilidade da iniciação da trinca. A fim de melhorar a interação entre as duas fases, a superfície das partículas pode ser modificada por compostos orgânicos, tais como silanos (Xu, Weir et al. 2007), ácidos

carboxílicos (Arcis, Lopez-Macipe et al. 2002) e TEGDMA (Rodrigues, Xavier et al. 2016).

Os dimetacrilatos usados como agentes funcionalizantes, DEGDMA e TEGDMA, diferem no tamanho do grupo espaçador. O DEGDMA tem um átomo de oxigênio central compartilhado por ambos os grupos etilenoglicol, o que parece facilitar a interação com o cálcio durante a síntese. O TEGDMA, por outro lado, tem um grupo de etilenoglicol no centro do grupo espaçador. Devido à restrição estérica, é improvável que ambos os átomos de oxigênio estabeleçam ligação com o cálcio. Além disso, um maior grupo espaçador permite configurações espaciais mais complexas, dificultando a interação com o cálcio. Esses aspectos são refletidos no maior conteúdo orgânico de partículas funcionalizadas com DEGDMA. O alto teor de monômero, por sua vez, explicaria a menor densidade e a maior área superficial dessas partículas em relação ao DCPD não funcionalizado e à funcionalização com TEGDMA. Tamanhos menores de partículas encontradas nos materiais funcionalizados podem ser devido ao fato que derivados do etileno glicol agem como co-solventes em sistemas à base de água, o que reduz a tensão superficial e favorece a nucleação dos cristais e, consequentemente, produzem partículas menores (Mehta, Chaudhary et al. 2009).

Estudos anteriores que testaram compósitos contendo 10 vol% e 20 vol% de DCPD apresentaram uma solução de compromisso entre propriedades mecânicas e liberação de íons (Chiari, Rodrigues et al. 2015, Alania, Chiari et al. 2016). Portanto, no presente estudo a fração de fosfato cálcio foi fixado em 15 vol%, como tentativa de balancear ambas as características. A incorporação de DCPD funcionalizado em compósitos aumentou seu grau de conversão em relação ao controle. Esta é uma evidência de que os monômeros funcionalizados incorporados na rede polimérica, mesmo em concentrações relativamente baixas, são capazes de reduzir a viscosidade do sistema e aumentar a conversão (Floyd and Dickens 2006). No presente estudo, a contração pós-gel (isto é, a fração de contração total após a polimerização) foi mensurada porque está mais relacionada ao desenvolvimento de tensões de polimerização (Boaro, Goncalves et al. 2010). Embora exista uma relação linear entre conversão e contração total (Shah and Stansbury 2014), o menor peso molecular do DEGDMA (242 g/mol) em relação ao TEGDMA (286 g/mol) e também o fato das partículas de DEGDMA terem maior fração de massa monomérica (34,4% versus 14,1% para as partículas de TEGDMA) explicam a maior contração para o compósito contendo DEGDMA, apesar da composição similar entre esses materiais.

A resistência à flexão biaxial inicial do DEGDMA foi maior do que o material contendo partículas de DCDP não-funcionalizadas. Isto pode ser atribuído ao seu alto conteúdo de agente funcionalizante (Alania, Chiari et al. 2016). Além disso, seu menor tamanho de partículas em relação a outras partículas de DCPD avaliadas pode ter contribuído para este resultado, com uma melhor interface DCPD/resina, partículas menores significam menores defeitos que poderiam iniciar a propagação da trinca. Os efeitos da hidrólise sobre as propriedades dos compósitos são bem conhecidos (Ferracane 2006). No entanto, no presente estudo, os 60 dias de armazenamento em água não foram suficientes para causar redução na resistência à flexão. Ainda assim, vale ressaltar que após 60 dias apenas o compósito com partículas funcionalizadas com DEGDMA permaneceram estatisticamente semelhante ao controle.

Nenhuma diferença no módulo flexural foi observada entre os grupos não-funcionalizado e o controle, o que concorda com estudos anteriores (Chiari, Rodrigues et al. 2015, Rodrigues, Xavier et al. 2016). No entanto, foi maior para o não-funcionalizado em comparação com o DEGDMA e TEGDMA provavelmente porque o conteúdo orgânico nas partículas funcionalizadas reduz a rigidez das partículas. Após 60 dias, apenas as partículas não-funcionalizadas apresentaram redução estatisticamente significativa no módulo flexural, possivelmente devido à falta de interação mais forte entre partícula e matriz resinosa, o que facilita o trânsito de água na interface matriz-partícula, aumentando o amolecimento da resina.

A funcionalização do DCPD não influenciou a tenacidade à fratura do compósito, seja após 24 horas ou 60 dias de imersão. Semelhante ao módulo flexural, apenas o TEGDMA apresentou redução estatisticamente significativa para o K_{1c} após armazenamento prolongado. A presença de partículas grandes em forma de placa teve um efeito positivo sobre esta propriedade em relação ao controle, também confirmando achados anteriores (Chiari, Rodrigues et al. 2015). Partículas de DCPD não podem ser consideradas partículas de reforço, como confirmado por imagens de microscopia de varredura que mostraram evidências de fratura das partículas. Ainda assim, os resultados sugerem que durante a propagação da trinca, a fratura das partículas de DCPD e a deflexão da extremidade da trinca reduzem a intensidade da tensão na ponta da trinca e adia seu crescimento instável, contribuindo para a tenacificação (Cesar, Yoshimura et al. 2006).

A funcionalização reduziu a liberação de íons cálcio apenas nos primeiros 15 dias. A maior concentração liberada pelo DCPD não-funcionalizado contribuiu para

sua maior liberação cumulativa após 60 dias (9,45 ppm) em comparação com outros compósitos (TEGDMA: 6,31 ppm, DEGDMA: 7,01 ppm). A liberação total mais baixa apresentada por compósitos contendo DCPD funcionalizado pode ser atribuída ao menor conteúdo de partículas de DCPD porque parte da fração em volume de DCPD é ocupada pelo monômero funcionalizante. A liberação de fosfato apresentou redução estatisticamente significativa ao longo do tempo, mas sem diferenças entre os compósitos aos 45 e 60 dias. A menor liberação de fosfato está relacionada à estrutura espacial dele na fase cristalina do fosfato de cálcio. Além disso, os átomos de oxigênio formam ligações com o hidrogênio presente na estrutura da água, o que inibe sua liberação (Arsic, Kaminski et al. 2004). É importante ressaltar que a liberação de íons, particularmente de cálcio, foi detectada até 60 dias. Embora seja difícil estimar se estas concentrações serão eficazes para reduzir a perda de mineral, é importante ressaltar que a liberação de íons é aumentada em condições ácidas (Xu, Weir et al. 2009). Além disso, um estudo *in situ* verificou a inibição de lesões de cárie em torno de restaurações usando um compósito contendo partículas de ACP, que mostrou uma liberação cumulativa de cálcio de 3 ppm sob pH neutro ao longo de um período de 28 dias (Melo, Weir et al. 2013).

6.5 Conclusão

Em conclusão, os presentes resultados mostraram que compósitos contendo 15% em volume de partículas de DCPD e 45% de partículas de reforço apresentaram maior tenacidade à fratura do que o material controle contendo 60% em volume de partículas de reforço. No geral, o uso de partículas de DCPD funcionalizadas com DEGDMA foi vantajoso em relação às partículas funcionalizadas com TEGDMA e/ou DCPD não-funcionalizado em termos de propriedade mecânicas após 60 dias de imersão. No entanto, o uso de DCPD funcionalizado com DEGDMA aumentou a contração pós-gel. O armazenamento em água levou a reduções significativas no módulo flexural para DCPD não-funcionalizado e na tenacidade à fratura partículas funcionalizadas com TEGDMA. A liberação de íons foi maior para o compósito com DCPD não-funcionalizado apenas até 15 dias. Portanto, as três hipóteses nulas podem ser rejeitadas.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Frente ao exposto neste trabalho podemos concluir o que segue: Em relação à fase 1 do projeto (síntese e caracterização):

- 1) O tamanho do grupo espaçador da molécula de funcionalizante interferiu no grau de funcionalização das partículas sintetizadas. Dentre os monômeros avaliados, o DEGDMA apresentou os maiores índices de retenção;
- 2) A utilização de maiores concentrações de monômero na síntese resultou em maior área superficial das partículas;
- 3) A funcionalização com monômeros derivados do dimetacrilatos de etilenoglicol não promoveu redução significativa na aglomeração das nanopartículas.

Em relação à fase 2 do projeto (materiais resinosos contendo 30% em volume de DCPD, sem partículas de reforço).

- 1) O material contendo 30 vol% de DCPD funcionalizado com DEGDMA 2:1 apresentou resistência à flexão 39% maior do que o material contendo DCPD não funcionalizado;
- 2) O módulo flexural dos materiais resinosos contendo DCPD funcionalizado foi 19% - 26% menor do que o apresentado pelo material contendo DCPD não funcionalizado;
- 3) A liberação de íons não foi afetada pela funcionalização, possivelmente porque o menor conteúdo de DCPD nos aglomerados de nanopartículas funcionalizadas foi compensado pela maior área superficial;
- 4) As concentrações iônicas mantiveram-se estáveis durante o período de 28 dias (Ca^{2+} : 11 ppm/semana, HPO_4^{2-} : 2 ppm/semana).

Em relação à fase 3 do projeto (compósitos contendo 15% em volume de DCPD e 45% em volume de partículas de reforço).

- 1) A contração volumétrica dos compósitos foi maior nos materiais contendo partículas de DCPD com níveis mais altos de funcionalizante;
- 2) A resistência à flexão dos compósitos experimentais foi afetada pela substituição de 15 vol% de partículas de reforço por DCPD, independentemente da funcionalização;

- 3) Compósitos contendo DCPD não funcionalizado e funcionalizado com TEGDMA apresentaram valores de resistência numericamente menores após 60 dias de armazenamento em água do que os demais materiais avaliados;
- 4) Com relação ao módulo flexural, todos os compósitos experimentais apresentaram valores estatisticamente semelhantes após 24 horas. Após 60 dias de armazenamento, os compósitos contendo DEGDMA e TEGDMA apresentaram valores inferiores aos demais materiais experimentais;
- 5) Compósitos contendo DCPD apresentaram valores de tenacidade à fratura semelhantes ou superiores ao do controle experimental (sem DCPD). Apenas reduções numéricas foram observadas entre 24 h e 60 dias de armazenamento;
- 6) De modo geral, não foram observadas diferenças nas concentrações iônicas liberadas pelos compósitos ao longo do experimento. Após 60 dias, a concentração de cálcio foi cerca de 60% da concentração liberada após 15 dias de imersão.

REFERÊNCIAS¹

Aghyarian S, Rodriguez LC, Chari J, Bentley E, Kosmopoulos V, Lieberman IH, Rodrigues DC. Characterization of a new composite PMMA-HA/Brushite bone cement for spinal augmentation. *J Biomater Appl*. 2014 Nov;29(5):688-98.

Alania Y, Chiari MD, Rodrigues MC, Arana-Chavez VE, Bressiani AH, Vichi FM, Braga RR. Bioactive composites containing TEGDMA-functionalized calcium phosphate particles: Degree of conversion, fracture strength and ion release evaluation. *Dent Mater*. 2016 Dec;32(12):e374-e381.

Aljabo A, Abou Neel EA, Knowles JC, Young AM. Development of dental composites with reactive fillers that promote precipitation of antibacterial-hydroxyapatite layers. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2016 Mar;60:285-292.

Aljabo A, Xia W, Liaqat S, Khan MA, Knowles JC, Ashley P, Young AM. Conversion, shrinkage, water sorption, flexural strength and modulus of re-mineralizing dental composites. *Dent Mater*. 2015 Nov;31(11):1279-89.

Altunsoy M, Botsali MS, Sari T, Onat H. Effect of different surface treatments on the microtensile bond strength of two self-adhesive flowable composites. *Lasers Med Sci*. 2015 Aug;30(6):1667-73.

Anthony J, W, Bideaux RA, Bladh KW and Nichols MC. (2000). "Mineralogical Society of America " Handbook of Mineralogy, from <http://www.handbookofmineralogy.org/>.

Antonucci JM, Liu DW, Skrtic D. Amorphous Calcium Phosphate Based Composites: Effect of Surfactants and Poly(ethylene oxide) on Filler and Composite Properties. *J Dispers Sci Technol*. 2007;28(5):819-824.

Antonucci JM, Zeiger DN, Tang K, Lin-Gibson S, Fowler BO, Lin NJ. Synthesis and characterization of dimethacrylates containing quaternary ammonium functionalities for dental applications. *Dent Mater*. 2012 Feb;28(2):219-28.

Arcís RW, López-Macipe A, Toledano M, Osorio E, Rodríguez-Clemente R, Murtra J, Fanovich MA, Pascual CD. Mechanical properties of visible light-cured resins reinforced with hydroxyapatite for dental restoration. *Dent Mater*. 2002 Jan;18(1):49-57.

¹De acordo com o Estilo Vancouver

Arikawa H, Kuwahata H, Seki H, Kanie T, Fujii K, Inoue K. Deterioration of mechanical properties of composite resins. *Dent Mater J*. 1995 Jun;14(1):78-83.

Arsic J., Kaminski D, Poodt P and Vlieg E (2004). "Liquid ordering at the Brushite-{010}-water interface." *Physical Review B* 69(24): 245406.]

Aydin Sevinç B, Hanley L. Antibacterial activity of dental composites containing zinc oxide nanoparticles. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2010 Jul;94(1):22-31.

Barreto BC, Van Ende A, Lise DP, Noritomi PY, Jaecques S, Sloten JV, De Munck J, Van Meerbeek B. Short fibre-reinforced composite for extensive direct restorations: a laboratory and computational assessment. *Clin Oral Investig*. 2016 Jun;20(5):959-66.

Beck F, Lettner S, Graf A, Bitriol B, Dumitrescu N, Bauer P, Moritz A, Schedle A. Survival of direct resin restorations in posterior teeth within a 19-year period (1996-2015): A meta-analysis of prospective studies. *Dent Mater*. 2015 Aug;31(8):958-85.

Bektas OO, Eren D, Akin EG, Akin H. Evaluation of a self-adhering flowable composite in terms of micro-shear bond strength and microleakage. *Acta Odontol Scand*. 2013 May-Jul;71(3-4):541-6.

Bernardo M, Luis H, Martin MD, Leroux BG, Rue T, Leitão J, DeRouen TA. Survival and reasons for failure of amalgam versus composite posterior restorations placed in a randomized clinical trial. *J Am Dent Assoc*. 2007 Jun;138(6):775-83.

Beyth N, Domb AJ, Weiss EI. An in vitro quantitative antibacterial analysis of amalgam and composite resins. *J Dent*. 2007 Mar;35(3):201-6.

Beyth N, Yudovin-Farber I, Bahir R, Domb AJ, Weiss EI. Antibacterial activity of dental composites containing quaternary ammonium polyethylenimine nanoparticles against *Streptococcus mutans*. *Biomaterials*. 2006 Jul;27(21):3995-4002.

Bijelic-Donova J, Garoushi S, Lassila LV, Keulemans F, Vallittu PK. Mechanical and structural characterization of discontinuous fiber-reinforced dental resin composite. *J Dent*. 2016 Sep;52:70-8.

Boaro LC, Gonçalves F, Guimarães TC, Ferracane JL, Versluis A, Braga RR. Polymerization stress, shrinkage and elastic modulus of current low-shrinkage restorative composites. *Dent Mater*. 2010 Dec;26(12):1144-50.

¹De acordo com o Estilo Vancouver

Bocalon AC, Mita D, Narumya I, Shouha P, Xavier TA, Braga RR. Replacement of glass particles by multidirectional short glass fibers in experimental composites: Effects on degree of conversion, mechanical properties and polymerization shrinkage. *Dent Mater*. 2016 Sep;32(9):e204-10.

Braga RR, Ballester RY, Ferracane JL. Factors involved in the development of polymerization shrinkage stress in resin-composites: a systematic review. *Dent Mater*. 2005 Oct;21(10):962-70.

Braga RR, Ferracane JL. Alternatives in polymerization contraction stress management. *J Appl Oral Sci*. 2004;12(spe):1-11.

Braga RR, Ferracane JL. Alternatives in polymerization contraction stress management. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2004 Jun 4;15(3):176-84.

Braga RR, Yamamoto T, Tyler K, Boaro LC, Ferracane JL, Swain MV. A comparative study between crack analysis and a mechanical test for assessing the polymerization stress of restorative composites. *Dent Mater*. 2012 Jun;28(6):632-41.

Brambilla E, Ionescu A, Gagliani M, Cochis A, Arciola CR, Rimondini L. Biofilm formation on composite resins for dental restorations: an in situ study on the effect of chlorhexidine mouthrinses. *Int J Artif Organs*. 2012 Oct;35(10):792-9

Brown EN, White SR and Sottos NR (2005). Retardation and repair of fatigue cracks in a microcapsule toughened epoxy composite - Part II: In situ self-healing. Composites Science and Technology 65(15-16): 2474-2480

Cama G, Barberis F, Botter R, Cirillo P, Capurro M, Quarto R, Scaglione S, Finocchio E, Mussi V, Valbusa U. Preparation and properties of macroporous brushite bone cements. *Acta Biomater*. 2009 Jul;5(6):2161-8.

Caruso MM, Blaiszik BJ, White SR, Sottos NR and Moore JS (2008). Full recovery of fracture toughness using a nontoxic solvent-based self-healing system. *Advanced Functional Materials* 18(13): 1898-1904.

Çelik EU, Aka B, Yilmaz F. Six-month Clinical Evaluation of a Self-adhesive Flowable Composite in Noncarious Cervical Lesions. *J Adhes Dent*. 2015 Aug;17(4):361-8.

¹De acordo com o Estilo Vancouver

Cesar PF, Yoshimura HN, Miranda WG Jr, Miyazaki CL, Muta LM, Rodrigues Filho LE. Relationship between fracture toughness and flexural strength in dental porcelains. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2006 Aug;78(2):265-73.

Chatzistavrou X, Velamakanni S, DiRenzo K, Lefkelidou A, Fenno JC, Kasuga T, Boccaccini AR, Papagerakis P. Designing dental composites with bioactive and bactericidal properties. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2015;52:267-72.

Cheng L, Weir MD, Xu HH, Antonucci JM, Lin NJ, Lin-Gibson S, Xu SM, Zhou X. Effect of amorphous calcium phosphate and silver nanocomposites on dental plaque microcosm biofilms. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2012 Jul;100(5):1378-86.

Cheng L, Weir MD, Xu HH, Kraigsley AM, Lin NJ, Lin-Gibson S, Zhou X. Antibacterial and physical properties of calcium-phosphate and calcium-fluoride nanocomposites with chlorhexidine. *Dent Mater*. 2012 May;28(5):573-83.

Cheng L, Zhang K, Zhou CC, Weir MD, Zhou XD, Xu HH. One-year water-ageing of calcium phosphate composite containing nano-silver and quaternary ammonium to inhibit biofilms. *Int J Oral Sci*. 2016 Sep 29;8(3):172-81.

Cheng YJ, Zeiger DN, Howarter JA, Zhang X, Lin NJ, Antonucci JM, Lin-Gibson S. In situ formation of silver nanoparticles in photocrosslinking polymers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2011 Apr;97(1):124-31.

Chiari MD, Rodrigues MC, Xavier TA, de Souza EM, Arana-Chavez VE, Braga RR. Mechanical properties and ion release from bioactive restorative composites containing glass fillers and calcium phosphate nano-structured particles. *Dent Mater*. 2015 Jun;31(6):726-33.

Choi KK, Ferracane JL, Hilton TJ, Charlton D. Properties of packable dental composites. *J Esthet Dent*. 2000;12(4):216-26.

Chow CK, Wu CD, Evans CA. In vitro properties of orthodontic adhesives with fluoride or amorphous calcium phosphate. *Int J Dent*. 2011;2011:583521.

Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res*. 2010 Nov;89(11):1187-97.

Condon JR, Ferracane JL. Assessing the effect of composite formulation on polymerization stress. *J Am Dent Assoc*. 2000 Apr;131(4):497-503.

¹De acordo com o Estilo Vancouver

Czasch P, Ilie N. In vitro comparison of mechanical properties and degree of cure of a self-adhesive and four novel flowable composites. *J Adhes Dent*. 2013 Jun;15(3):229-36.

Dickens SH, Flaim GM, Takagi S. Mechanical properties and biochemical activity of remineralizing resin-based Ca-PO₄ cements. *Dent Mater*. 2003 Sep;19(6):558-66.

Domingo C, Arcís RW, López-Macipe A, Osorio R, Rodríguez-Clemente R, Murtra J, Fanovich MA, Toledano M. Dental composites reinforced with hydroxyapatite: mechanical behavior and absorption/elution characteristics. *J Biomed Mater Res*. 2001 Aug;56(2):297-305.

Dorozhkin SV. Calcium orthophosphates in dentistry. *J Mater Sci Mater Med*. 2013 Jun;24(6):1335-63.

Drummond JL, Miescke KJ. Weibull models for the statistical analysis of dental composite data: aged in physiologic media and cyclic-fatigued. *Dent Mater*. 1991 Jan;7(1):25-9.

Dry C. (1996). "Procedures developed for self-repair of polymer matrix composite materials." *Composite Structures* 35(3): 263-269.

Dui M and Zheng Y (2007). "Modification of silica nanoparticles and their application in UDMA dental polymeric composites." *Polymer Composites* 28(2): 198-207.

Eliades A, Birpou E, Eliades T, Eliades G. Self-adhesive restoratives as pit and fissure sealants: a comparative laboratory study. *Dent Mater*. 2013 Jul;29(7):752-62.

Esteban Florez FL, Hiers RD, Smart K, Kreth J, Qi F, Merritt J, Khajotia SS. Real-time assessment of *Streptococcus mutans* biofilm metabolism on resin composite. *Dent Mater*. 2016 Oct;32(10):1263-1269.

Fan C, Chu L, Rawls HR, Norling BK, Cardenas HL, Whang K. Development of na antimicrobial resin--a pilot study. *Dent Mater*. 2011 Apr;27(4):322-8.

Ferracane JL. Hygroscopic and hydrolytic effects in dental polymer networks. *Dent Mater*. 2006 Mar;22(3):211-22.

¹De acordo com o Estilo Vancouver

Ferracane JL. Resin composite--state of the art. *Dent Mater*. 2011 Jan;27(1):29-38.

Ferracane JL, Hilton TJ. Polymerization stress--is it clinically meaningful? *Dent Mater*. 2016 Jan;32(1):1-10.

Ferracane JL, Hopkin JK, Condon JR. Properties of heat-treated composites after aging in water. *Dent Mater*. 1995 Nov;11(6):354-8.

Ferracane JL, Stansbury JW, Burke FJ. Self-adhesive resin cements - chemistry, properties and clinical considerations. *J Oral Rehabil*. 2011 Apr;38(4):295-314.

Floyd CJ, Dickens SH. Network structure of Bis-GMA- and UDMA-based resin systems. *Dent Mater*. 2006 Dec;22(12):1143-9.

Fróes-Salgado NR, Gajewski V, Ornaghi BP, Pfeifer CS, Meier MM, Xavier TA, Braga RR. Influence of the base and diluent monomer on network characteristics and mechanical properties of neat resin and composite materials. *Odontology*. 2015 May;103(2):160-8.

Fronza BM, Rueggeberg FA, Braga RR, Mogilevych B, Soares LE, Martin AA, Ambrosano G, Giannini M. Monomer conversion, microhardness, internal marginal adaptation, and shrinkage stress of bulk-fill resin composites. *Dent Mater*. 2015 Dec;31(12):1542-51.

Fu J, Kakuda S, Pan F, Hoshika S, Ting S, Fukuoka A, Bao Y, Ikeda T, Nakaoki Y, Selimovic D, Sano H, Sidhu SK. Bonding performance of a newly developed step-less all-in-one system on dentin. *Dent Mater J*. 2013;32(2):203-11.

Garoushi S, Säilynoja E, Vallittu PK, Lassila L. Physical properties and depth of cure of a new short fiber reinforced composite. *Dent Mater*. 2013 Aug;29(8):835-41.

Garoushi SK, Hatem M, Lassila LVJ, Vallittu PK. The effect of short fiber composite base on microleakage and load-bearing capacity of posterior restorations. *Acta Biomater Odontol Scand*. 2015 Apr 14;1(1):6-12.

Giachetti L, Scaminaci Russo D, Baldini M, Bertini F, Steier L, Ferrari M. Push-out strength of translucent fibre posts cemented using a dual-curing technique or a light-curing self-adhering material. *Int Endod J*. 2012 Mar;45(3):249-56.

¹De acordo com o Estilo Vancouver

Gonçalves F, Pfeifer CS, Ferracane JL, Braga RR. Contraction stress determinants in dimethacrylate composites. *J Dent Res*. 2008 Apr;87(4):367-71.

Goracci C, Cadenaro M, Fontanive L, Giangrosso G, Juloski J, Vichi A, Ferrari M. Polymerization efficiency and flexural strength of low-stress restorative composites. *Dent Mater*. 2014 Jun;30(6):688-94.

Goracci C, Margvelashvili M, Giovannetti A, Vichi A, Ferrari M. Shear bond strength of orthodontic brackets bonded with a new self-adhering flowable resin composite. *Clin Oral Investig*. 2013 Mar;17(2):609-17.

Huyang G, Debertin AE, Sun J. Design and development of self-healing dental composites. *Mater Des*. 2016 Mar 15;94:295-302.

Imazato S. Bio-active restorative materials with antibacterial effects: new dimension of innovation in restorative dentistry. *Dent Mater J*. 2009 Jan;28(1):11-9.

Imazato S, Torii M, Tsuchitani Y, McCabe JF, Russell RR. Incorporation of bacterial inhibitor into resin composite. *J Dent Res*. 1994 Aug;73(8):1437-43.

İşman E, Karaarslan ES, Okşayan R, Tunçdemir AR, Üşümez S, Adanir N, Cebe MA. Inadequate shear bond strengths of self-etch, self-adhesive systems for secure orthodontic bonding. *Dent Mater J*. 2012;31(6):947-53.

Jandt KD, Sigusch BW. Future perspectives of resin-based dental materials. *Dent Mater*. 2009 Aug;25(8):1001-6.

Kalachandra SKR, (1991). Comparison of water sorption by methacrylate and dimethacrylate monomers and their corresponding polymers. 32:7.

Kasraie S, Azarsina M, Khamverdi Z, Shokraneh F. Microleakage of dual-cured adhesive systems in class v composite resin restorations. *J Dent (Tehran)*. 2012 Spring;9(2):99-106.

Kermanshahi S, Santerre JP, Cvitkovitch DG, Finer Y. Biodegradation of resin-dentin interfaces increases bacterial microleakage. *J Dent Res*. 2010 Sep;89(9):996-1001.

¹De acordo com o Estilo Vancouver

Khvostenko D, Hilton TJ, Ferracane JL, Mitchell JC, Kruzic JJ. Bioactive glass fillers reduce bacterial penetration into marginal gaps for composite restorations. *Dent Mater*. 2016 Jan;32(1):73-81.

Khvostenko D, Mitchell JC, Hilton TJ, Ferracane JL, Kruzic JJ. Mechanical performance of novel bioactive glass containing dental restorative composites. *Dent Mater*. 2013 Nov;29(11):1139-48.

Kida E, Matyja E. Dynamics and pattern of ultrastructural alterations induced by quinolinic acid in organotypic culture of rat hippocampus. *Neuropatol Pol*. 1990;28(1-2):67-82.

Knobloch LA, Kerby RE, Seghi R, Berlin JS, Clelland N. Fracture toughness of packable and conventional composite materials. *J Prosthet Dent*. 2002 Sep;88(3):307-13.

Kransler KM. Results of a 90-day inhalation study of dicyclopentadiene in B6C3F1 mice. *Toxicol Ind Health*. 2014 Jun;30(5):459-66.

Krause WR, Park SH, Straup RA. Mechanical properties of BIS-GMA resin shortglass fiber composites. *J Biomed Mater Res*. 1989 Oct;23(10):1195-211.

Langhorst SE, O'Donnell JN, Skrtic D. In vitro remineralization of enamel by polymeric amorphous calcium phosphate composite: quantitative microradiographic study. *Dent Mater*. 2009 Jul;25(7):884-91.

Lassila L, Garoushi S, Vallittu PK, Silynoja E. Mechanical properties of fiber reinforced restorative composite with two distinguished fiber length distribution. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2016 Jul;60:331-338.

LeGeros RZ. Calcium phosphates in oral biology and medicine. *Monogr Oral Sci*. 1991;15:1-201.

Leprince JG, Palin WM, Vanacker J, Sabbagh J, Devaux J, Leloup G. Physico-mechanical characteristics of commercially available bulk-fill composites. *J Dent*. 2014 Aug;42(8):993-1000.

Liu Y, Zhang L, Niu LN, Yu T, Xu HHK, Weir MD, Oates TW, Tay FR, Chen JH. Antibacterial and remineralizing orthodontic adhesive containing quaternary

¹De acordo com o Estilo Vancouver

ammonium resin monomer and amorphous calcium phosphate nanoparticles. *J Dent*. 2018 May;72:53-63.

Lokhande NA, Padmai AS, Rathore VP, Shingane S, Jayashankar DN, Sharma U. Effectiveness of flowable resin composite in reducing microleakage - an in vitro study. *J Int Oral Health*. 2014 Jun;6(3):111-4.

Makishi P, Pacheco RR, Sadr A, Shimada Y, Sumi Y, Tagami J, Giannini M. Assessment of Self-Adhesive Resin Composites: Nondestructive Imaging of Resin-Dentin Interfacial Adaptation and Shear Bond Strength. *Microsc Microanal*. 2015 Dec;21(6):1523-1529.

Malavasi CV, Macedo EM, Souza Kda C, Rego GF, Schneider LF, Cavalcante LM. Surface Texture and Optical Properties of Self-Adhering Composite Materials after Toothbrush Abrasion. *J Contemp Dent Pract*. 2015 Oct 1;16(10):775-82.

Marovic D, Tarle Z, Hiller KA, Müller R, Ristic M, Rosentritt M, Skrtic D, Schmalz G. Effect of silanized nanosilica addition on remineralizing and mechanical properties of experimental composite materials with amorphous calcium phosphate. *Clin Oral Investig*. 2014 Apr;18(3):783-92.

Marovic D, Tarle Z, Hiller KA, Müller R, Rosentritt M, Skrtic D, Schmalz G. Reinforcement of experimental composite materials based on amorphous calcium phosphate with inert fillers. *Dent Mater*. 2014 Sep;30(9):1052-60.

Mehta SK, Chaudhary S, Bhasin KK. Spectral characterization and colloidal properties of 1-hexadecylpyridinium chloride in aqueous binary mixtures of different glycols. *J Colloid Interface Sci*. 2009 May 15;333(2):646-54.

Melo MA, Cheng L, Weir MD, Hsia RC, Rodrigues LK, Xu HH. Novel dental adhesive containing antibacterial agents and calcium phosphate nanoparticles. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2013 May;101(4):620-9.

Melo MA, Weir MD, Rodrigues LK, Xu HH. Novel calcium phosphate nanocomposite with caries-inhibition in a human in situ model. *Dent Mater*. 2013 Feb;29(2):231-40.

Miyazaki M, Ando S, Hinoura K, Onose H, Moore BK. Influence of filler addition to bonding agents on shear bond strength to bovine dentin. *Dent Mater*. 1995 Jul;11(4):234-8.

¹De acordo com o Estilo Vancouver

Mobarak E, Seyam R. Interfacial nanoleakage and bonding of self-adhesive systems cured with a modified-layering technique to dentin of weakened roots. *Oper Dent*. 2013 Sep-Oct;38(5):E154-65.

Monticelli F, Osorio R, Mazzitelli C, Ferrari M, Toledano M. Limited decalcification/diffusion of self-adhesive cements into dentin. *J Dent Res*. 2008 Oct;87(10):974-9.

Moreau JL, Weir MD, Giuseppetti AA, Chow LC, Antonucci JM, Xu HH. Long-term mechanical durability of dental nanocomposites containing amorphous calcium phosphate nanoparticles. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2012 Jul;100(5):1264-73.

Morra M. Acid-base properties of adhesive dental polymers. *Dent Mater*. 1993 Nov;9(6):375-8.

Natale LC, Rodrigues MC, Alania Y, Chiari MDS, Vilela HS, Vieira DN, Arana-Chavez V, Meier MM, Vichi FM, Braga RR. Development of calcium phosphate/ethylene glycol dimethacrylate particles for dental applications. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2018 Aug 9.

Nedeljkovic I, Teughels W, De Munck J, Van Meerbeek B, Van Landuyt KL. Is secondary caries with composites a material-based problem? *Dent Mater*. 2015 Nov;31(11):e247-77.

Opdam NJ, van de Sande FH, Bronkhorst E, Cenci MS, Bottenberg P, Pallesen U, Gaengler P, Lindberg A, Huysmans MC, van Dijken JW. Longevity of posterior composite restorations: a systematic review and meta-analysis. *J Dent Res*. 2014 Oct;93(10):943-9.

Opdam NJ, van de Sande FH, Bronkhorst E, Cenci MS, Bottenberg P, Pallesen U, Gaengler P, Lindberg A, Huysmans MC, van Dijken JW. Longevity of posterior composite restorations: a systematic review and meta-analysis. *J Dent Res*. 2014 Oct;93(10):943-9.

Peters MC, Bresciani E, Barata TJ, Fagundes TC, Navarro RL, Navarro MF, Dickens SH. In vivo dentin remineralization by calcium-phosphate cement. *J Dent Res*. 2010 Mar;89(3):286-91.

Petersen RC. Discontinuous fiber-reinforced composites above critical length. *J Dent Res*. 2005 Apr;84(4):365-70.

¹De acordo com o Estilo Vancouver

Pietrokovski Y, Nisimov I, Kesler-Shvero D, Zaltsman N, Beyth N. Antibacterial effect of composite resin foundation material incorporating quaternary ammonium polyethyleneimine nanoparticles. *J Prosthet Dent*. 2016 Oct;116(4):603-609.

Poitevin A, De Munck J, Van Ende A, Suyama Y, Mine A, Peumans M, Van Meerbeek B. Bonding effectiveness of self-adhesive composites to dentin and enamel. *Dent Mater*. 2013 Feb;29(2):221-30.

Qiu SR, Orme CA. Dynamics of biomineral formation at the near-molecular level. *Chem Rev*. 2008 Nov;108(11):4784-822.

Quinn GD, (2007). "Fractography of Ceramics and Glasses." National Institute of Standards and Technology.

Rasines Alcaraz MG, Veitz-Keenan A, Sahrmann P, Schmidlin PR, Davis D, Iheozor-Ejiofor Z. Direct composite resin fillings versus amalgam fillings for permanent or adult posterior teeth. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014 Mar 31;(3):CD005620.

Rekow ED, Bayne SC, Carvalho RM, Steele JG. What constitutes an ideal dental restorative material? *Adv Dent Res*. 2013 Nov;25(1):18-23.

Rengo C, Goracci C, Juloski J, Chieffi N, Giovannetti A, Vichi A, Ferrari M. Influence of phosphoric acid etching on microleakage of a self-etch adhesive and a self-adhering composite. *Aust Dent J*. 2012 Jun;57(2):220-6.

Rodrigues MC, Chiari MDS, Alania Y, Natale LC, Arana-Chavez VE, Meier MM, Fadel VS, Vichi FM, Hewer TLR, Braga RR. Ion-releasing dental restorative composites containing functionalized brushite nanoparticles for improved mechanical strength. *Dent Mater*. 2018 May;34(5):746-755.

Rodrigues MC, Hewer TL, Brito GE, Arana-Chavez VE, Braga RR. Calcium phosphate nanoparticles functionalized with a dimethacrylate monomer. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2014 Dec;45:122-6.

Rodrigues MC, Natale LC, Arana-Chaves VE, Braga RR. Calcium and phosphate release from resin-based materials containing different calcium orthophosphate nanoparticles. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2015 Nov;103(8):1670-8.

¹De acordo com o Estilo Vancouver

Rodrigues MC, Xavier TA, Arana-Chavez VE, Braga RR. Polymer-based material containing calcium phosphate particles functionalized with a dimethacrylate monomer for use in restorative dentistry. *J Biomater Appl*. 2016 Nov 23.

Rueggeberg FA, Caughman WF, Chan DC. Novel approach to measure composite conversion kinetics during exposure with stepped or continuous light-curing. *J Esthet Dent*. 1999;11(4):197-205.

Ruyter IE, Svendsen SA. Remaining methacrylate groups in composite restorative materials. *Acta Odontol Scand*. 1978;36(2):75-82.

Sachdeva P, Goswami M, Singh D. Comparative evaluation of shear bond strength and nanoleakage of conventional and self-adhering flowable composites to primary teeth dentin. *Contemp Clin Dent*. 2016 Jul-Sep;7(3):326-31.

Sakaguchi RL, Versluis A, Douglas WH. Analysis of strain gage method for measurement of post-gel shrinkage in resin composites. *Dent Mater*. 1997 Jul;13(4):233-9.

Samuel SP, Li S, Mukherjee I, Guo Y, Patel AC, Baran G, Wei Y. Mechanical properties of experimental dental composites containing a combination of mesoporous and nonporous spherical silica as fillers. *Dent Mater*. 2009 Mar;25(3):296-301.

Santerre JP, Shajii L, Leung BW. Relation of dental composite formulations to their degradation and the release of hydrolyzed polymeric-resin-derived products. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2001;12(2):136-51.

Shah PK, Stansbury JW. Role of filler and functional group conversion in the evolution of properties in polymeric dental restoratives. *Dent Mater*. 2014 May;30(5):586-93.

Shortall AC, Palin WM, Burtscher P. Refractive index mismatch and monomer reactivity influence composite curing depth. *J Dent Res*. 2008 Jan;87(1):84-8.

Shouha P, Swain M, Ellakwa A. The effect of fiber aspect ratio and volume loading on the flexural properties of flowable dental composite. *Dent Mater*. 2014 Nov;30(11):1234-44.

¹De acordo com o Estilo Vancouver

Shouha PSR, Ellakwa AE. Effect of short glass fibers on the polymerization shrinkage stress of dental composite. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2017 Oct;105(7):1930-1937.

Sideridou I, Tserki V, Papanastasiou G. Study of water sorption, solubility and modulus of elasticity of light-cured dimethacrylate-based dental resins. *Biomaterials*. 2003 Feb;24(4):655-65.

Silva KG, Pedrini D, Delbem AC, Ferreira L, Cannon M. In situ evaluation of the remineralizing capacity of pit and fissure sealants containing amorphous calcium phosphate and/or fluoride. *Acta Odontol Scand*. 2010 Jan;68(1):11-8.

Skrtic D, Antonucci JM. Dental composites based on amorphous calcium phosphate - resin composition/physicochemical properties study. *Biomater Appl*. 2007 Apr;21(4):375-93.

Skrtic D, Antonucci JM, Eanes ED. Improved properties of amorphous calcium phosphate fillers in remineralizing resin composites. *Dent Mater*. 1996 Sep;12(5):295-301.

Skrtic D, Hailer AW, Takagi S, Antonucci JM, Eanes ED. Quantitative assessment of the efficacy of amorphous calcium phosphate/methacrylate composites in remineralizing caries-like lesions artificially produced in bovine enamel. *J Dent Res*. 1996 Sep;75(9):1679-86.

Söderholm KJ, Lambrechts P, Sarrett D, Abe Y, Yang MC, Labella R, Yildiz E, Willems G. Clinical wear performance of eight experimental dental composites over three years determined by two measuring methods. *Eur J Oral Sci*. 2001 Aug;109(4):273-81.

Souza JG, Tenuta LM, Del Bel Cury AA, Nóbrega DF, Budin RR, de Queiroz MX, Vogel GL, Cury JA. Calcium Preinse before Fluoride Rinse Reduces Enamel Demineralization: An in situ Caries Study. *Caries Res*. 2016;50(4):372-7.

Spencer P, Ye Q, Misra A, Goncalves SE, Laurence JS. Proteins, pathogens, and failure at the composite-tooth interface. *J Dent Res*. 2014 Dec;93(12):1243-9.

Tavassoli Hojati S, Alaghemand H, Hamze F, Ahmadian Babaki F, Rajab-Nia R, Rezvani MB, Kaviani M, Atai M. Antibacterial, physical and mechanical properties of flowable resin composites containing zinc oxide nanoparticles. *Dent Mater*. 2013 May;29(5):495-505.

¹De acordo com o Estilo Vancouver

Tay FR, Pashley DH. Biomimetic remineralization of resin-bonded acid-etched dentin. *J Dent Res*. 2009 Aug;88(8):719-24.

Tezvergil-Mutluay A, Seseogullari-Dirihan R, Feitosa VP, Cama G, Brauer DS, Sauro S. Effects of Composites Containing Bioactive Glasses on Demineralized Dentin. *J Dent Res*. 2017 Aug;96(9):999-1005.

Tezvergil A, Lassila LV, Vallittu PK. The effect of fiber orientation on the polymerization shrinkage strain of fiber-reinforced composites. *Dent Mater*. 2006 Jul;22(7):610-6.

Truong VT, Tyas MJ. Prediction of in vivo wear in posterior composite resins: a fracture mechanics approach. *Dent Mater*. 1988 Dec;4(6):318-27.

Tuloglu N, Sen Tunc E, Ozer S, Bayrak S. Shear bond strength of self-adhering flowable composite on dentin with and without application of an adhesive system. *J Appl Biomater Funct Mater*. 2014 Sep 5;12(2):97-101.

Tyas MJ, Anusavice KJ, Frencken JE, Mount GJ. Minimal intervention dentistry--a review. FDI Commission Project 1-97. *Int Dent J*. 2000 Feb;50(1):1-12.

Uysal T, Amasyali M, Koyuturk AE, Ozcan S, Sagdic D. Amorphous calciumphosphate-containing orthodontic composites. Do they prevent demineralisation around orthodontic brackets? *Aust Orthod J*. 2010 May;26(1):10-5.

Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A, Coutinho E, Suzuki K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*. 2007 Sep;28(26):3757-85.

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

Vichi A, Margvelashvili M, Goracci C, Papacchini F, Ferrari M. Bonding and sealing ability of a new self-adhering flowable composite resin in class I restorations. *Clin Oral Investig*. 2013 Jul;17(6):1497-506.

¹De acordo com o Estilo Vancouver

Vogel GL, Schumacher GE, Chow LC, Takagi S, Carey CM. Ca pre-rinse greatly increases plaque and plaque fluid F. *J Dent Res*. 2008 May;87(5):466-9.

Wang L, Xie X, Imazato S, Weir MD, Reynolds MA, Xu HHK. A protein-repellent and antibacterial nanocomposite for Class-V restorations to inhibit periodontitis-related pathogens. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2016 Oct 1;67:702-710.

Wei YJ, Silikas N, Zhang ZT, Watts DC. Diffusion and concurrent solubility of self-adhering and new resin-matrix composites during water sorption/desorption cycles. *Dent Mater*. 2011 Feb;27(2):197-205.

Wei YJ, Silikas N, Zhang ZT, Watts DC. Hygroscopic dimensional changes of self-adhering and new resin-matrix composites during water sorption/desorption cycles. *Dent Mater*. 2011 Mar;27(3):259-66.

Weir MD, Chow LC, Xu HH. Remineralization of demineralized enamel via calcium phosphate nanocomposite. *J Dent Res*. 2012 Oct;91(10):979-84.

Wertzberger BE, Steere JT, Pfeifer RM, Nensel MA, Latta MA and Gross SM (2010). Physical Characterization of a Self-Healing Dental Restorative Material. *J Appl Polym Sci*118(1): 428-434.

White SR, Sottos NR, Geubelle PH, Moore JS, Kessler MR, Sriram SR, Brown EN, Viswanathan S. Autonomic healing of polymer composites. *Nature*. 2001 Feb 15;409(6822):794-7.

Wu J, Weir MD, Melo MA, Strassler HE, Xu HH. Effects of water-aging on self-healing dental composite containing microcapsules. *J Dent*. 2016 Apr;47:86-93.

Wu J, Weir MD, Melo MA, Xu HH. Development of novel self-healing and antibacterial dental composite containing calcium phosphate nanoparticles. *J Dent*. 2015 Mar;43(3):317-26.

Wu J, Weir MD, Zhang Q, Zhou C, Melo MA, Xu HH. Novel self-healing dental resin with microcapsules of polymerizable triethylene glycol dimethacrylate and N,N-dihydroxyethyl-p-toluidine. *Dent Mater*. 2016 Feb;32(2):294-304.

Xu HH, Moreau JL. Dental glass-reinforced composite for caries inhibition: calcium phosphate ion release and mechanical properties. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2010 Feb;92(2):332-40.

¹De acordo com o Estilo Vancouver

Xu HH, Moreau JL, Sun L, Chow LC. Nanocomposite containing amorphous calcium phosphate nanoparticles for caries inhibition. *Dent Mater*. 2011 Aug;27(8):762-9.

Xu HH, Weir MD, Sun L. Nanocomposites with Ca and PO₄ release: effects of reinforcement, dicalcium phosphate particle size and silanization. *Dent Mater*. 2007 Dec;23(12):1482-91.

Xu HH, Weir MD, Sun L. Calcium and phosphate ion releasing composite: effect of pH on release and mechanical properties. *Dent Mater*. 2009 Apr;25(4):535-42.

Xu HH, Weir MD, Sun L, Moreau JL, Takagi S, Chow LC, Antonucci JM. Strong nanocomposites with Ca, PO₄, and F release for caries inhibition. *J Dent Res*. 2010 Jan;89(1):19-28.

Xu HH, Weir MD, Sun L, Takagi S, Chow LC. Effects of calcium phosphate nanoparticles on Ca-PO₄ composite. *J Dent Res*. 2007 Apr;86(4):378-83.

Yazici AR, Agarwal I, Campillo-Funollet M, Munoz-Viveros C, Antonson SA, Antonson DE, Mang T. Effect of laser preparation on bond strength of a self-adhesive flowable resin. *Lasers Med Sci*. 2013 Jan;28(1):343-7.

Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, Inoue S, Tagawa Y, Suzuki K, De Munck J, Van Meerbeek B. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res*. 2004 Jun;83(6):454-8.

Yoshida Z, Kihara S. "Polyoxyethylene Ether Surfactants on Ion Transfer across Aqueous Organic Solution Interfaces Studied by Polarography with the Electrolyte Dropping Electrode." *Journal of Electroanalytical Chemistry* 1997 227(1): 171-181.

Zawaideh FI, Owais AI, Kawaja W. Ability of Pit and Fissure Sealant-containing Amorphous Calcium Phosphate to inhibit Enamel Demineralization. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2016 Jan-Mar;9(1):10-4.

Zhang JF, Wu R, Fan Y, Liao S, Wang Y, Wen ZT, Xu X. Antibacterial dental composites with chlorhexidine and mesoporous silica. *J Dent Res*. 2014 Dec;93(12):1283-9.

Zhang L, Weir MD, Chow LC, Antonucci JM, Chen J, Xu HH. Novel rechargeable calcium phosphate dental nanocomposite. *Dent Mater*. 2016 Feb;32(2):285-93.

¹De acordo com o Estilo Vancouver

Zhang L, Weir MD, Hack G, Fouad AF, Xu HH. Rechargeable dental adhesive with calcium phosphate nanoparticles for long-term ion release. J Dent. 2015 Dec;43(12):1587-95.

Zhang N, Ma J, Melo MA, Weir MD, Bai Y, Xu HH. Protein-repellent and antibacterial dental composite to inhibit biofilms and caries. J Dent. 2015 Feb;43(2):225-34.

Zhang N, Weir MD, Chen C, Melo MA, Bai Y, Xu HH. Orthodontic cement with protein-repellent and antibacterial properties and the release of calcium and phosphate ions. J Dent. 2016 Jul;50:51-9.