UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

CARLA MÜLLER RAMOS TONELLO

**Caracterização físico-química, mecânica e biológica de cimento
autoadesivo aditivado com nanotubos de dióxido de titânio**

BAURU
2016

CARLA MÜLLER RAMOS TONELLO

Caracterização físico-química, mecânica e biológica de cimento autoadesivo aditivado com nanotubos de dióxido de titânio

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências no Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, na área de concentração Dentística.

Orientador: Profa. Dra. Ana Flávia Sanches Borges

BAURU
2016

T612c Tonello, Carla Müller Ramos
Caracterização físico-química, mecânica e
biológica de cimento autoadesivo aditivado com
nanotubos de dióxido de titânio / Carla Müller Ramos
Tonello – Bauru, 2016.
120 p. : il. ; 31cm.

Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de
Bauru. Universidade de São Paulo

Orientador: Profa. Dra. Ana Flávia Sanches
Borges

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a
reprodução total ou parcial desta tese, por processos fotocopiadores
e outros meios eletrônicos.

Assinatura do autor: _____

Data: ____ / ____ / ____

FOLHA DE APROVAÇÃO

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho à minha família: fonte farta e permanente de amor, de cuidado, de força e estímulo. Minha base, minha essência.

Aos meus queridos pais, **Valter e Maria Magdalena**, minhas referências de princípios e valores de vida. Minha admiração profunda a vocês como pais exemplares, pessoas íntegras e profissionais ímpares. Muito obrigada pela vida dedicada a nós, ao nosso bem-estar e formação. Dedico as minhas conquistas a vocês, que sempre foram suporte e apoio diante de desafios, que sempre acreditaram nas minhas escolhas e sonhos e por terem me ensinado a importância de encontrar significado em tudo que se faz. Com amor pleno e infinito que tenho por vocês, muito obrigada por tudo!

Ao meu marido **Cristiano**. A decisão de fazer pós-graduação em Bauru me presenteou com você em minha vida. A sequência de encontros “ao acaso” resultou em um amor imenso e maduro entre nós. É impossível dimensionar o quanto bem você me faz e quantas alegrias o nosso convívio me trouxe. Você acompanhou, se envolveu e me apoiou muito durante esse período. Te agradeço imensamente por acreditar perseverantemente que eu estava no caminho certo, por entender e me estimular em minhas escolhas profissionais. Muito obrigada meu amor, amo muito você! Estendo os meus agradecimentos à Família Tonello, aos meus queridos sogros **Luiz e Elaine**, e aos meus cunhados e amigos **Diego, Luana, Tatiana e Rômulo** que me acolheram com muito afeto e amor.

Ao meu irmão **Paulo**, que naturalmente exerceu o cuidado e zelo comigo desde sempre. Agradeço pelo incentivo constante e por acreditar tanto no meu potencial. Admiro demais sua determinação e a forma como conduz a vida. Agradeço à minha querida cunhada **Ana Paula**, que me adotou como irmã caçula e sempre esteve por perto me apoiando em todos os momentos. Obrigada a vocês dois pela amizade,

companheirismo e por torcerem tanto pelas minhas realizações pessoais e profissionais. Amo muito vocês.

Às minhas duas grandes amigas que escolhi como irmãs, **Caroline e Edna**. Vocês são indispensáveis e insubstituíveis em minha vida. Agradeço por estarem sempre presentes, mesmo a distância. Pelo alicerce, pela sinceridade e pelo apoio ilimitado de todas as horas. Cada uma de vocês, com suas particularidades evidentes, torna minha caminhada mais doce e leve. Que possamos permanecer unidas comungando dos mesmos valores de amizade que temos desde a infância. Amigas, muito obrigada por existirem em minha vida, amo muito vocês.

À Deus, por me dar a melhor família que poderia existir. Por ser conforto e respaldo espiritual em momentos difíceis e por encher-me de bênçãos durante minha vida. Quando há amor, Deus está presente.

AGRADECIMENTOS

Ubuntu, antiga palavra africana de origem Zulu, que expressa a filosofia cujo significado se refere à humanidade com os outros. Trata-se de um conceito amplo sobre a essência do ser humano e a forma como se comporta em sociedade: “Uma pessoa é uma pessoa por meio de outras pessoas”. Nesse momento de agradecimento, tenho a clara convicção de que *Ubuntu* esteve presente no processo que tornou possível transformar um forte anseio em realidade. Com esse conceito aflorado em meu coração, dedico algumas palavras àqueles que foram essenciais para minha conquista:

Em especial, agradeço à minha orientadora Profa. Dra. **Ana Flávia Sanches Borges**. Obrigada por ter norteado e vivenciado minha passagem pela pós-graduação. Talvez tenha sido essa sua característica como docente mais marcante: dar vida a tudo que faz. E isso é inspirador! Obrigada por me ensinar a transpor muros, buscar ajuda e fazer parcerias. Valorizar todas as conquistas, elencar as prioridades, ter senso crítico e não desistir, jamais. Agradeço imensamente pela confiança, pelo respeito e carinho e por todo tempo a mim dedicado. Me sinto honrada e orgulhosa de ser sua primeira orientada de doutorado, mas acima de tudo por ter sido orientada por alguém tão ética e competente. Meu profundo e sincero agradecimento a você Profa. Ana Flávia por todas as oportunidades oferecidas e pela construção de amizade e parceria durante esses anos.

Profa. Dra. **Linda Wang**, te agradeço imensamente pelo acolhimento, pela atenção e cuidado com a nossa formação, principalmente por nos estimular a vivenciar o ambiente acadêmico aberto ao debate de ideias. Meu agradecimento a você vai além do período que estive na FOB, porque muito da decisão de fazer pós-graduação veio do contato que tivemos em Londrina, em que sua postura e seriedade como docente me inspiraram para que eu seguisse minha intuição de estar aqui. Muito obrigada por toda dedicação e carinho e por nos preparar tão bem para os desafios da vida profissional.

Ao Prof. Dr. **José Henrique Rubo**. Professor, muito obrigada por toda colaboração com essa pesquisa e em todas outras atividades que participamos em conjunto. Agradeço especialmente por demonstrar excelência e serenidade em tudo que diz e faz. Me sinto honrada em tê-lo como membro da minha banca avaliadora e agradecida por toda contribuição de sempre.

Ao Prof. Dr. **Paulo Noronha Lisboa-Filho**. Que privilégio eu tive em conhecê-lo e ter tido a oportunidade de trabalhar em parceria contigo e sua equipe. Agradeço imensamente pela paciência com uma aluna Cirurgiã-Dentista e pela confiança depositada para que eu desenvolvesse esse trabalho. Obrigada por todo ensinamento e pela disponibilidade em ajudar e ensinar mesmo com uma agenda repleta de compromissos. Estendo meus agradecimentos às suas alunas de pós-graduação, em especial a **Larisa** e **Bruna**, que dedicaram prontamente parte de seu tempo para me ajudar.

À Profa. Dra. **Regina Maria Puppim-Rontani**. Que honra tê-la em minha banca avaliadora, pois é referência em excelência docente de minha orientadora e, portanto, minha também. Acredito que muito da forma de ensinar da Profa. Ana Flávia é legado de sua orientação primorosa. Muito obrigada por se disponibilizar em participar desse momento e colaborar com nosso trabalho.

Ao Prof. Dr. **Carlos Eduardo Edwards Rezende**. Carlos, agradeço por toda colaboração durante a pós-graduação, pela amizade e parceria nos projetos que tivemos a oportunidade de realizar juntos e por sempre tão cordial e prestativo. Muito obrigada por tudo.

Aos demais Professores do Departamento de Dentística: Prof. Dr. **Rafael Francisco Lia Mondelli**, Prof. Dr. **Adilson Yoshio Furuse**, Prof. Dr. **Carlos Eduardo Francischone**, Prof. Dr. **José Carlos Pereira**. Profa. Dra. **Juliana Fraga Soares Bombonatti**, Profa. Dra. **Maria Teresa Atta**, Prof. Dr. **Sérgio Kiyoshi Ishikiriyama**,

Prof. Dr. **José Mondelli** e Profa. Dra. **Maria Fidela de Lima Navarro** e do Departamento de Materiais Odontológicos: em especial ao Prof. Dr. **Paulo Afonso Silveira Franscisoni** e Prof. Dr. **César Antunes de Freitas**. Agradeço por todo ensinamento, atenção e zelo com nossa formação. É uma honra poder estar tão perto de professores tão competentes como vocês.

Ao Prof. Dr. **Heitor Marques Honório**. Professor, muito obrigada por toda a colaboração com a análise estatística desse trabalho e por sempre ter me recebido com tanta atenção e seriedade.

Ao Prof. Dr. **Rodrigo Cardoso de Oliveira** e sua aluna de pós-graduação **Cintia Kazuko Tokuhara**, que me receberam tão bem no departamento de Bioquímica e contribuíram imensamente para realização da etapa biológica desse trabalho. Muito obrigada pela dedicação e envolvimento com meu trabalho.

Ao Prof. Dr. **Carlos Alberto Fortulan**, por ter me recebido com tanto respeito e carinho em seu laboratório de Tribologia e Compósitos, da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC - USP) e por todo conhecimento que dividiu comigo nos dias que pude acompanhá-lo. Essa experiência foi surpreendentemente importante em minha formação. Muito obrigada.

A todos meus colegas contemporâneos de pós-graduação, em especial aos de minha turma de doutorado, **Raphaela, Odair, Marina, Diana, Rafael Maenosono, Larissa, Carlos, Ana Flávia, Bhenya e Rafael Menezes** e às orientadas da Profa. Ana Flávia, **Luara, Idiane, Ana Paula, Natália e Lígia** pelos ótimos momentos de convívio e aprendizado mútuo durante esses anos.

Às minhas amigas Bauruenses **Diandra e Flávia**. Vocês deixaram meus dias em Bauru mais alegres e felizes. Afinidade instantânea que não se explica, apenas se

aceita. Obrigada pelo suporte emocional, pelos exemplos de garra e determinação e pelos ótimos momentos juntas. Amo vocês minhas amigas queridas.

Aos funcionários do Departamento de Materiais Odontológicos, **Sandrinha, Alcides e Neide**. Agradeço imensamente pelos ótimos momentos vivenciados nesse período, por todo envolvimento de vocês com as nossas atividades e por deixarem o departamento de materiais tão acolhedor. Aos funcionários do Departamento de Dentística, **Audria, Charlene, Rita, Elizio, Lígia, Natália, Nelson e Zuleica**, obrigada por estarem sempre dispostos a ajudar e por toda colaboração nas diversas atividades desenvolvidas. Muito obrigada a todos.

Ao **Marcelo Milanda** e a todos os funcionários do centro integrado de pesquisa CIP-FOB/USP, pela prontidão e disponibilidade em ajudar durante a realização da minha pesquisa.

Aos **alunos da graduação** da FOB/USP, em especial ao aluno de Iniciação Científica, **Bruno Freitas Trevizo** que confiou seu projeto aos meus cuidados. Poder orientá-lo sob a supervisão da Profa. Ana Flávia, foi motivador e de muita relevância para minha curva de aprendizado na pós-graduação.

Aos Professores da disciplina de Dentística da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, FOA/UNESP: Prof. Dr. **Sílvio José Mauro**, Prof. Dr. **André Luiz Fraga Briso**, Prof. Dr. **Renato Herman Sundfeld**, Prof. Dr. **Ricardo Coelho Okida**, Profa. Dra. **Ticiane Cestari Fagundes**, Profa. Dra. **Mirela Sanae Shinohara** e Profa. Dra. **Letícia Cunha Amaral Gonzaga de Almeida** por me recepcionarem de forma tão amistosa e cordial. Cientes da minha inexperiência, respeitaram minha primeira oportunidade como docente, me auxiliando e norteando meus passos como professora. Obrigada a todos pela confiança.

Aos professores da Universidade de Michigan, que me acolheram de forma ímpar e afetuosa: Dr. **Brian Love** (*Department of Materials Science and Engineering*), Dr. **Gisele Neiva** e Dr. **Stephen Bayne** (*Department of Cariology, Restorative Sciences, and Endodontics*), Dr. **Gustavo Mendonça** (*Department of Biologic and Materials Sciences and Division of Prosthodontics*) e Dr. **Lúcia Cevidanes** (*Department of Orthodontics and Pediatric Dentistry*). Obrigada por permitirem que eu vivenciasse essa experiência única e riquíssima de aprendizado e evolução profissional e pessoal. Estendo meus agradecimentos aos alunos da *Restorative Dentistry Program*, em especial ao **André** e **Eman Jabarti**, e aos amigos de Ann Arbor **Antônio**, **Elaine**, **Marília**, **Marcelo** e **Liliane**.

Ao Complexo Educacional das Faculdade Metropolitanas Unidas, **FMU**, do qual faço parte como Professora Assistente, nas pessoas da Coordenadora de Odontologia Profa. Dra. **Fernanda Aurora Stabile Gonnelli**, da magnífica Reitora Profa. **Sara Pedrini Martins** e aos demais **professores** das disciplinas de Clínica Odontológica Integrada e Materiais Dentários pelo oportunidade e confiança.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, **CAPES**, pela bolsa de estudos concedida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, **FAPESP**, pelo auxílio concedido para execução dessa pesquisa (processo 2013/10021-5).

À **3M Espe**, pela doação de parte do material utilizado na pesquisa.

À Pós-Graduação da FOB/USP, na pessoa do Presidente Prof. Dr. **Guilherme dos Reis Pereira Janson** e À Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo (FOB/USP), na pessoa da diretora Profa. Dra. **Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado**.

“Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas, que já tem a forma do nosso corpo, e esquecer os nossos caminhos, que nos levam sempre aos mesmos lugares. É o tempo da travessia: e, se não ousarmos fazê-la, teremos ficado, para sempre, à margem de nós mesmos.”

Fernando Pessoa

RESUMO

O objetivo desse estudo foi realizar a caracterização do cimento resinoso autoadesivo RelyX U200 aditivado de nanotubos de dióxido de titânio (nt-TiO₂) em diferentes concentrações (0,3, 0,6, e 0,9% em peso) quanto às suas propriedades físico-químicas, mecânicas e biológica. Duas condições de polimerização foram analisadas: autopolimerizável (grupos: AC, A03, A06 e A09) e dual (grupos: DC, D03, D06 e D09). Para análise do grau de conversão foi utilizada a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier com registro do espectro nos tempos de 3, 6, 9, 12 e 15 minutos. Os picos das bandas de comprimento de onda de 1638 cm⁻¹ e de 1608 cm⁻¹ foram identificados para cálculo do grau de conversão. Os dados foram submetidos à ANOVA de medidas repetidas seguido de comparações múltiplas de Tukey ($\alpha=0,05$). A análise de sorção e solubilidade foi realizada por meio da confecção de discos de cimento resinoso (10 mm $\varnothing$ x 2 mm) (n=8) monitorados quanto à sua massa depois de ciclos de hidratação/desidratação. A resistência à flexão em 3 pontos e módulo de elasticidade foram mensurados por meio de barras (2 x 2 x 25 mm) de cimento resinoso (n=10) levadas à máquina universal de ensaios. Para análise de Dureza Knoop utilizou-se microdurômetro com carga de 50g /10 segundos. Nos discos de cimento resinoso de 10 mm $\varnothing$ x 2 mm foram realizadas 5 endentações equidistantes 0,5mm e medidas em aumento de 50x. Para resistência de união ao cisalhamento, sobre discos de zircônia sinterizados foi aplicado o cimento resinoso (n=10) nas dimensões de 3 mm $\varnothing$ x 2 mm. Por meio de dispositivo foram levados à máquina universal de ensaios. Os dados encontrados de sorção e solubilidade e de cada propriedade mecânica foram submetidos aos testes ANOVA a dois critérios e de comparações múltiplas de Tukey ($\alpha=0,05$). Exceto para resistência ao cisalhamento que se utilizou o teste de comparação de Fischer ($\alpha=0,05$). Para viabilidade celular (n=8) foi realizado teste de MTT apenas na condição dual. Os grupos estudados foram: DC, D03, D06, D09, CP (controle positivo), CN (controle negativo). Após 24, 48 e 72 horas os níveis de absorbâncias foram analisados por meio de espectrofotometria no leitor de ELISA. Os dados foram submetidos aos testes ANOVA a dois critérios e de comparações múltiplas de Tukey ($\alpha=0,05$). Os resultados mostraram que a adição de nt-TiO₂, independente da concentração, aumentou os valores de grau de conversão do cimento resinoso para a condição autopolimerizável e dual em todos os tempos estudados. Já para sorção e solubilidade não houve

influência nos resultados da concentração de nanotubos inseridos e da condição de polimerização. Para resistência flexural, a adição de nt-TiO₂ nas concentrações de 0,3% (A03) e 0,9% (A09) resultou em dados similares ao controle na condição dual (DC). O valor médio de módulo de elasticidade aumentou com a adição de 0,9% (A09), similar a todos os grupos da condição dual, em que adição de nt-TiO₂ não influenciou os resultados. A adição de 0,6% (A06 e D06) e 0,9% (A09 e D09) de nt-TiO₂ ao cimento aumentou os valores de dureza quando comparado aos grupos controle (AC e DC). Para resistência de união ao cisalhamento, a concentração de 0,3% de nt-TiO₂ (A03 e D03) aumentou os valores quando comparado aos grupos A06, D06, A09 e D09 porém sem diferença para os grupos controle (AC e DC). Para viabilidade celular no período de 24h, os grupos D03, D06 e D09 obtiveram resultado similar ao grupo CP, já o grupo DC apresentou valores de absorbância inferiores ao CP, usado como parâmetro de comparação. Em 48 e 72h, todos os grupos experimentais não demonstraram diferença significativa em comparação ao grupo CP. O grupo CN apresentou diferença para os demais em todos dos tempos estudados. A adição de nt-TiO₂ ao cimento resinoso autoadesivo representa uma estratégia promissora para potencializar suas propriedades físico-químicas e mecânicas sem prejuízo das propriedades biológicas.

Palavras-chave: Cimentos Dentários. Polimerização. Nanotecnologia. Nanotubos. Titânio. Propriedades Físicas e Químicas. Fenômenos Mecânicos.

ABSTRACT

Physical-Chemical, Mechanical and Biological Characterization of Reinforcement Self-Adhesive Resin Cement Titanium Dioxide Nanotubes

The aim of this study was to characterize the self-adhesive resin cement RelyX U200 additive, titanium dioxide nanotubes (nt-TiO₂), at different concentrations (0.3%, 0.6%, and 0.9% by weight) and to determine their physicochemical, mechanical and biological properties. Two polymerization conditions were analyzed: self-curing (groups AC, A03, A06 and A09) and dual-curing (groups DC, D03, D06 and D09). To analyze the conversion degree, Fourier transform infrared spectroscopy was used, and the spectrum was recorded at 3, 6, 9, 12 and 15 minutes. The peaks of the wavelength bands, 1638 cm⁻¹ and 1608 cm⁻¹, were identified to calculate the degree of conversion. The data were subjected to a repeated-measures ANOVA followed by a Tukey multiple-comparison test ($\alpha=0.05$). The sorption and solubility analysis was performed by making resin-cement discs (10 mm $\varnothing$ $\times$ 2 mm) (n=8) and monitoring their masses after the hydration/dehydration cycles. The 3-point flexural strength and the modulus of elasticity of resin-cement bars (2 $\times$ 2 $\times$ 25 mm) (n=10) were measured using a universal testing machine. The Knoop microhardness was analyzed with a load of 50 g and a time of 10 seconds. On each resin cement disc, 5 equidistant indentations of 0.5 mm were made, and the measures were increased by 50 $\times$. To test bonding shear strength, resin cement was applied to sintered zirconia discs (3 mm $\varnothing$ $\times$ 2 mm) (n=10). The bonded discs were then taken to the universal testing machine. Their sorption, solubility and each mechanical property were submitted to a two-way ANOVA and a Tukey multiple-comparison test ($\alpha=0.05$). The shear strength was submitted to a Fischer comparison test ($\alpha=0.05$). To test cell viability (n=8), a MTT assay was performed using only the dual-curing condition. The studied groups were: DC, D03, D06, D09, CP (positive control) and CN (negative control). After 24, 48 and 72 hours, the absorbance levels were analyzed using an ELISA spectrophotometry reader. The data were submitted to a two-way ANOVA and a Tukey multiple-comparison test ($\alpha=0.05$). The results showed that the addition of nt-TiO₂, regardless of concentration, increased the conversion degree values for the self-curing resin cement and for the dual-curing at all times studied. The sorption and solubility were not influenced by the

concentration of the nanotubes or the polymerization condition. Regarding flexural strength, the addition of the nt-TiO₂ in concentrations of either 0.3% (A03) or 0.9% (A09) resulted in data similar to those in the dual-curing control (DC) condition. The average modulus of elasticity increased with the addition of 0.9% nt-TiO₂ (A09), and as with all the groups in the dual-curing condition, the addition of nt-TiO₂ did not affect the results. The addition of either 0.6% (A06 and D06) or 0.9% (A09 and D09) of nt-TiO₂ cement increased hardness values relative to the control groups (AC and DC). The group with a 0.3% concentration of nt-TiO₂ (A03 and D03) showed higher bonding shear strength values than several of the groups with higher concentrations (A06, D06 and D09), but the A09 group had no difference relative to either control group (AC or DC). For cell viability in the 24-h period, the D03 D06 and D09 groups achieved a result similar to that of the CP group with significant difference to the DC group that had lower absorbance values. At the benchmarks of 48 and 72 h, and only the CN group showed a significant difference compared to others. The addition of nt-TiO₂ is a promising strategy for improving the physical-chemical and mechanical properties without prejudice the biological properties.

Keywords: Dental Cements. Polymerization. Nanotechnology. Nanotubes. Titanium. Physical and Chemical Properties. Mechanical Phenomena.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

- Figura 1 - Ativação do peróxido de benzoíla pela presença do ativador em que a ligação –O–O– é quebrada. O ponto adjacente ao oxigênio do radical livre simboliza o elétron não emparelhado. Adaptado de (ANUSAVICE, 2005) 39
- Figura 2 - A) Embalagem do tipo Clicker do cimento RelyX U200 em que as duas pastas são dispensadas na mesma proporção. B) Embalagem do tipo Automix do cimento RelyX U200 em que as pastas são misturadas pela ponta misturadora acoplada. (Imagens disponíveis em: www.solutions.3m.com.br) 47
- Figura 3 - Representação esquemática do polimorfos do TiO₂. Parte azul das figuras representa o Titânio e os pontos vermelhos o Oxigênio. A) Anatase. B) Rutilo e C) Brookita. Adaptado de (DAMODARAN et al, 2015)..... 49
- Figura 4 - Representação esquemática - delineamento experimental com fatores e níveis da variável resposta grau de conversão..... 59
- Figura 5 - Representação esquemática - delineamento experimental com fatores e níveis das variáveis resposta sorção e solubilidade, resistência flexural, módulo de elasticidade, dureza e resistência de união ao cisalhamento..... 60
- Figura 6 - Representação esquemática - delineamento experimental com fatores e níveis da variável resposta viabilidade celular indireta..... 60
- Figura 7 - A) Pesagem do cimento resinoso autoadesivo RelyX U200. B) Pesagem dos nt-TiO₂. C) Mistura das pastas base e catalisadora após a incorporação dos nt-TiO₂. 62
- Figura 8 - A) Espectrofotômetro IRPrestige-21. B) Acessório de refletância total atenuada (ATR) MIRacle™ equipado com cristal de diamantes/ZnSe de reflectância única 64
-

Figura 9 - Picos em 1608 e 1638 cm^{-1} identificados nas bandas espectrais utilizadas para o cálculo do grau de conversão antes da polimerização (0 minutos) e de depois da polimerização (3,6,9,12 e 15 minutos)	65
Figura 10 - A) Matriz cilíndrica para confecção das amostras.B) Discos de cimento resinoso após polimerização.....	66
Figura 11 - A) Dispositivo metálico para confecção das amostras de cimento resinoso. B) Amostras em formato de barra após a polimerização... ..	68
Figura 12 - Dispositivo para ensaio de flexão em três pontos com amostra de cimento resinoso em posição	69
Figura 13 - A) Microdurômetro (Buehler, Lake Bluff, EUA). B) Endentador Knoop sendo aplicado sobre a amostra de cimento resinoso.	70
Figura 14 - Mensuração da medida do comprimento da impressão (em mm) ao longo do maior eixo do losango obtido por endentação Knoop.	70
Figura 15 - A) Bloco pré-sinterizado de zircônia usinado em formato cilíndrico e acoplado em máquina de corte. B) Disco sinterizado de zircônia incluído em PVC e resina acrílica, C) Jateamento da superfície da Y-TZP com óxido de alumínio.....	71
Figura 16 - A) Dispositivo para padronização da confecção de amostras de cimento resinoso. B) Matriz bipartida. C) Amostra finalizada.....	72
Figura 17 - A) Desenho ilustrativo do dispositivo para ensaio de cisalhamento. B) Amostra de cimento resinoso acoplado no dispositivo no momento do teste	72
Figura 18 - A) Matriz bipartida com cimento resinoso. B) Matriz bipartida aberta e amostra de cimento resinoso polimerizada	73
Figura 19 - Aplicação de tripsina em frasco de cultura para dissociação das células aderidas.	74
Figura 20 - Contagem das células em microscópio óptico pelo método de azul de tripan.....	75

Figura 21 - A) Tubo falcon de 50 ml com amostras de cimento do grupo DC e D03 em meio de cultura. B) Tubo falcon de 50 ml com amostras de cimento do grupo D06 e D09 em meio de cultura.....	76
Figura 22 - Layout do experimento realizado em placa de 96 poços	77
Figura 23 - A) Adição de MTT nos micropoços. B) Adição de DMSO para leitura das absorbâncias. C) Aparelho de Espectrofotometria para mensuração da absorbância	78
Figura 24 - Imagens de microscopia ótica nos períodos de 24, 48 e 72 horas (colunas) para todos os grupos estudados CN, CP, D03, D06 e D09 (linhas).	90

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

GRÁFICOS

Gráfico 1-	Grau de conversão dos grupos estudados nos diferentes tempos. Sinal ♦ representa varredura em 9 minutos após a aplicação da luz pelo fotopolimerizador.....	82
Gráfico 2-	Valores médios do grau de sorção ($\mu\text{g}/\text{mm}^3$) e desvios padrão. Letras iguais representam similaridade estatística significativa entre os grupos estudados ($p>0,05$).....	83
Gráfico 3-	Valores médios do grau de solubilidade ($\mu\text{g}/\text{mm}^3$). Letras iguais representam similaridade estatística significativa entre os grupos estudados ($p>0,05$).....	84
Gráfico 4-	Correlação entre sorção e solubilidade $\mu\text{g}/\text{mm}^3$ para a condição autopolimerizável	84
Gráfico 5-	Correlação entre sorção e solubilidade $\mu\text{g}/\text{mm}^3$ para a condição dual.	85
Gráfico 6-	Valores médios de dureza (MPa) de cada grupo. Letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados ($p<0,05$).....	86
Gráfico 7-	Distribuição (em %) dos tipos de falhas (adesiva, coesiva e mista) para cada grupo estudado.....	88
Gráfico 8-	Análise da redução do MTT nos períodos de 24, 48 e 72 horas	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação dos cimentos resinosos, técnica adesiva no substrato dentário e alguns exemplos comerciais disponíveis atualmente.....	34
Tabela 2 - Representação das fórmulas estruturais (FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011) dos principais monômeros convencionais que podem ser utilizados na composição de cimentos resinosos autoadesivos e suas respectivas características	35
Tabela 3 - Representação das fórmulas estruturais (FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011) dos principais monômeros ácidos que podem ser utilizados na composição de cimentos resinosos autoadesivos e suas respectivas características.	37
Tabela 4 - Informações descritas na bula do fabricante do cimento RelyX U200. Indicações, preparo do remanescente dentário e da restauração indireta.....	46
Tabela 5 - Material (cimento resinoso autoadesivo), composição e marca comercial.....	61
Tabela 6 - Condições de polimerização e grupos experimentais	63
Tabela 7 - Valores das médias e respectivos desvios padrão do grau de conversão (%). Letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados ($p < 0,05$)	81
Tabela 8 - Valores das médias e respectivos desvios padrão (DV) da resistência flexural (σ_f) e do módulo de elasticidade (E) para cada grupo. Letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados ($p < 0,05$).....	85
Tabela 9 - Valores das médias e respectivos desvios padrão (DV) da resistência ao cisalhamento (σ) de cada grupo. Letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados ($p < 0,05$).....	87
Tabela 10- Grupos controle e experimentais e seus respectivos valores de pH	88

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

10-MDP	10-metacriloxidecil dihidrogênio fosfato
1D	1 dimensão
2D	2 dimensões
3D	3 dimensões
4-MET	4-metacriloxietil trimetílico
4-META	4-metacriloxietil anidrido trimetílico
A03	Grupo adicionado com 0,3% de nanotubos de TiO ₂ auto
A06	Grupo adicionado com 0,6% de nanotubos de TiO ₂ auto
A09	Grupo adicionado com 0,9% de nanotubos de TiO ₂ auto
AC	Grupo controle auto
ANOVA	Análise de variância
ATR	Acessório de reflectância total atenuada
b	Espessura da amostra
<i>Bandgap</i>	Banda de condução
BHT	Hidroxitolueno butilado
Bis-GMA	Bisfenol A glicidil metacrilato
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	Hidroxiapatita
CN	Grupo controle negativo
CO ₂	Gás Carbônico
CP	Grupo controle positivo
D03	Grupo adicionado com 0,3% de nanotubos de TiO ₂ dual
D06	Grupo adicionado com 0,6% de nanotubos de TiO ₂ dual
D09	Grupo adicionado com 0,9% de nanotubos de TiO ₂ dual
DC	Grupo controle dual
DMEM	Meio Eagle modificado por Dulbecco
DMSO	Dimetilsulfóxido
DV	Desvio Padrão
E	Módulo de Elasticidade
Fenil-P	2-metacriloxietil fenil hidrogênio fosfato
FT-IR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
GC	Grau de conversão
HCl	Ácido Clorídrico
HEMA	Hidroxietil metacrilato
I	Distância entre apoios
ISO	Internacional Standard Organization
LED	Diodo emissor de luz
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2- difeniltetrazólio

NaOH	Hidróxido de Sódio
nt-TiO ₂	Nanotubos de dióxido de titânio
P	Carga de fratura
PBS	Tampão fosfato-salino
PMGDM	Dimetacrilato glicerol pirometílico
redox	Oxirredução
RMN	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear
SFB	Soro fetal bovino
TEGDMA	Dimetacrilato de trietilenoglicol
TiO ₂	Dióxido de titânio
UDMA	Dimetacrilato de uretano
w	Largura da amostra
Wsl	Solubilidade de água
Wsp	Sorção de água
XPS	Espectroscopia de fotoelétrons de raio X
XRD	Difração de raio X
Y-TZP	Zircônia tetragonal policristalina parcialmente estabilizada com ítria
σ_f	Resistência flexural

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	27
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	33
2.1	CIMENTO RESINOSO AUTOADESIVO	33
2.1.1	Composição	34
2.1.2	Reação de polimerização.....	38
2.1.3	União com substrato dentário.....	42
2.1.4	Considerações clínicas.....	44
2.1.5	RelyX U200.....	45
2.2	NANOESTRUTURAS	47
2.2.1	Nanotubos de TiO₂	49
2.2.2	Nanoestruturas em materiais resinosos odontológicos.....	50
3	PROPOSIÇÃO	55
3.1	OBJETIVO GERAL.....	55
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	55
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	59
4.1	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	59
4.2	SÍNTESE DOS NANOTUBOS DE TiO ₂	60
4.3	PREPARO DO CIMENTO RESINOSO	61
4.3.1	Polimerização do cimento resinoso autoadesivo.....	62
4.4	GRAU DE CONVERSÃO	63
4.4.1	Análise estatística – grau de conversão.....	65
4.5	SORÇÃO E SOLUBILIDADE.....	66
4.5.1	Análise estatística – sorção e solubilidade.....	67
4.6	PROPRIEDADES MECÂNICAS	67
4.6.1	Resistência flexural (σ_f) e módulo de elasticidade (E).....	67
4.6.2	Dureza.....	69
4.6.3	Resistência de união ao cisalhamento	71
4.6.4	Análise estatística - propriedades mecânicas	72

4.7	VIABILIDADE CELULAR INDIRETA	73
4.7.1	Preparo das amostras de cimento resinoso	73
4.7.2	Cultura de Células	74
4.7.3	Preparo dos grupos experimentais.....	75
4.7.4	Plaqueamento celular.....	76
4.7.5	Redução do MTT.....	77
4.7.6	Análise estatística – viabilidade celular indireta.....	78
5	RESULTADOS	81
5.1	GRAU DE CONVERSÃO	81
5.2	SORÇÃO E SOLUBILIDADE.....	83
5.3	RESISTÊNCIA FLEXURAL E MÓDULO DE ELASTICIDADE	85
5.4	DUREZA	86
5.5	RESISTÊNCIA DE UNIÃO AO CISALHAMENTO	87
5.6	VIABILIDADE CELULAR INDIRETA	88
6	DISCUSSÃO	93
7	CONCLUSÕES	105
	REFERÊNCIAS	109

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Paralelamente ao desenvolvimento e evolução dos sistemas adesivos e resinas compostas, os cimentos resinosos também obtiveram importante avanço em suas propriedades e indicações. O cimento resinoso autoadesivo foi desenvolvido com a finalidade de simplificar os procedimentos de cimentação, eliminando as etapas de condicionamento ácido e aplicação de sistema adesivo no substrato dentário, diminuindo o tempo clínico (DE MUNCK et al, 2004, RADOVIC et al, 2008, DE ANGELIS et al, 2011). Uma variedade de cimentos resinosos autoadesivos está disponível atualmente no mercado odontológico devido à sua crescente popularidade e utilização (MADRUGA et al, 2013). Suas propriedades adesivas são atribuídas à presença de monômeros metacrilato modificados por grupamentos ácidos que permitem a infiltração e a desmineralização do substrato resultando em retenção micromecânica e em união química com a hidroxiapatita do dente (DE MUNCK et al, 2004). Este mecanismo de união química adicional representa uma característica notável quando comparado a outros cimentos resinosos, que são essencialmente de natureza micromecânica (VAN MEERBEEK et al, 1993).

Porém o constante investimento no aprimoramento dos materiais resinosos como os cimentos, reflete a situação atual da Odontologia em que a era adesiva, mesmo consolidada, apresenta lacunas. A presença de monômeros ácidos no cimento resinoso autoadesivo pode afetar negativamente seu grau de conversão, uma vez que existe interferência com o iniciador amina resultando em alteração no mecanismo de presa (VROCHARI et al, 2009) e prejuízo de algumas propriedades físicas e mecânicas (ARRAIS; GIANNINI; RUEGGEBERG, 2009, AGUIAR et al, 2015, D'ALPINO et al, 2015). Além disso, mesmo portadores de polimerização dual e indicados para todos os tipos de cimentação, nem todos os cimentos apresentam o mesmo índice de conversão dos monômeros nas diferentes condições de polimerização. A realização da fotopolimerização em cimentos autoadesivos duais promove maior conversão dos monômeros (KOMORI et al, 2010) resultando em ótimas propriedades mecânicas (PEGORARO; DA SILVA; CARVALHO, 2007) e em melhores propriedades biológicas (MONTEIRO et al, 2010, MORGAN et al, 2015). Porém uma vez que muitos desses cimentos têm sido indicados para as mais diversas situações clínicas, o que se espera é que o protocolo de ativação química forneça as

mesmas propriedades físico-químicas, mecânicas e biológicas ao longo do tempo, em áreas onde a energia luminosa não tenha sido capaz de alcançar (SIDERIDOU; TSERKI; PAPANASTASIOU, 2003, CAMILOTTI et al, 2008).

Outro fator a ser considerado é a associação de cimentos resinosos autoadesivos com cerâmicas policristalinas, cenário crítico e em constante estudo (CAVALCANTI et al, 2009, BURGESS; GHUMAN; CAKIR, 2010, OZCAN; BERNASCONI, 2015, QEBLAWI; CAMPILLO-FUNOLLET; MUNOZ, 2015). A zircônia policristalina tetragonal parcialmente estabilizada com Ítria (Y-TZP) tem sido uma opção frequente para infraestrutura de coroas e próteses parciais fixas. Sua presença, como material restaurador indireto, pode dificultar ou impedir a passagem da luz durante a fotopolimerização do cimento (ILIE, 2016) prejudicando a conversão dos monômeros. Além de comprometer a eficácia dos procedimentos de cimentação adesiva como aplicação de ácido fluorídrico e silano devido à ausência de sílica e de fase vítrea em sua composição (DERAND; MOLIN; KVAM, 2005, OZCAN; KERKDIJK; VALANDRO, 2008).

Com a finalidade de melhorar algumas propriedades dos materiais resinosos, a adição de nanoestruturas de dióxido de titânio (TiO_2) tem demonstrado resultados positivos significativos no comportamento de materiais poliméricos como resina composta (XIA et al, 2008, SUN et al, 2011, ARRUDA, 2015), resina composta de baixa viscosidade (DAFAR et al, 2016), cimento resinoso ortodôntico (POOSTI et al, 2013) e em cimento de ionômero de vidro (ELSAKA; HAMOUDA; SWAIN, 2011, CIBIM, 2016).

A diminuição do tamanho de diferentes óxidos em escala nanométrica fomenta o surgimento de uma ampla gama de aplicações em diferentes materiais, já que seu comportamento muda quando comparado ao seu estado em tamanho padrão (CHENG et al, 2013), tornando-se um material funcional muito eficaz (CHEN X.; MAO, 2007). Óxidos nanométricos, como o TiO_2 , podem apresentar propriedades físicas e químicas únicas devido à sua reduzida dimensão e pela alta densidade de sítios superficiais, aumentando sua reatividade e interação com o meio (ROY; BERGER; SCHMUKI, 2011). Em especial, as nanoestruturas em formato de nanotubos que apresentam-se em forma de espiral oca, proporcionam uma grande área superficial que pode dar origem a fortes interações interna e externamente com matriz em que estão incorporados (GOTO et al, 2005) além de estabilidade química e alto índice de refração (ARRUDA, 2015).

Considerando que óxidos em escala nanométrica podem ser facilmente incorporados aos materiais resinosos quando manipulados (ARRUDA, 2015), a adição desses ao cimento resinoso autoadesivo pode ser uma alternativa para melhorar o comportamento geral da restauração indireta, seja nas propriedades do cimento em si ou na interface de união com Y-TZP. A caracterização inicial por meio da análise das propriedades físico-químicas, mecânicas e biológica de um cimento resinoso autoadesivo com sua composição aditivada de nt-TiO_2 em diferentes concentrações é uma abordagem promissora para o processo de desenvolvimento de um novo material com características aprimoradas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CIMENTO RESINOSO AUTOADESIVO

Resultado do desejo de simplificar os procedimentos de cimentação (BURGESS; GHUMAN; CAKIR, 2010, FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011), o cimento resinoso autoadesivo foi desenvolvido em um contexto em que os promissores cimentos resinosos já estavam sendo amplamente utilizados na prática clínica em função de suas características como satisfatória resistência de união ao esmalte e dentina e à compressão, menor solubilidade em longo prazo em relação aos cimentos de fosfato de zinco e ionômero de vidro, excelente característica estética e possibilidade de controle do tempo de trabalho, no caso dos cimentos fotoativados (HITZ et al, 2012, LAD et al, 2014). Mas sua origem dependeu do aprimoramento dos materiais resinosos ao longo dos anos que tiveram início na década de sessenta pelo desenvolvimento de monômeros dimetacrilatos das resinas compostas (BOWEN, 1963) associado à técnica de condicionamento ácido (BUONOCORE, 1955).

Os cimentos resinosos autoadesivos fazem parte, portanto, do grupo de materiais resinosos utilizados como agentes de cimentação de restaurações indiretas. Atualmente, os cimentos resinosos podem ser classificados em convencionais, autocondicionantes e autoadesivos (BURGESS; GHUMAN; CAKIR, 2010) (tabela 1). Os cimentos resinosos convencionais necessitam da realização do condicionamento ácido e aplicação de sistema adesivo no substrato dentário previamente à cimentação. Apresentam maiores valores de resistência de união com o dente em relação aos demais (BURGESS; GHUMAN; CAKIR, 2010), no entanto, exigem procedimento de aplicação de múltiplos passos, aumentando risco de contaminação (LAD et al, 2014) e a possibilidade de sensibilidade pós-operatória (BAYNE, 2007). Os cimentos autocondicionantes utilizam-se do sistema adesivo autocondicionante composto por primer ácido, que dispensa a aplicação do ácido fosfórico, seguido da aplicação do cimento para união entre o dente e a restauração (MAKKAR; MALHOTRA, 2013). Os cimentos autoadesivos não exigem qualquer tratamento no substrato dentário previamente à cimentação. A eliminação dessa etapa clínica apresenta as vantagens

de economia de tempo e de minimizar a contaminação do substrato com sangue, saliva ou fluido gengival (LAD et al, 2014) .

Tabela 1 – Classificação dos cimentos resinosos, técnica adesiva no substrato dentário e alguns exemplos comerciais disponíveis atualmente.

	Cimentos Resinosos		
	Convencional	Autocondicionante	Autoadesivo
Técnica adesiva	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Aplicação de ácido fosfórico ▪ Aplicação de sistema adesivo 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Aplicação de primer ácido e adesivo 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Dispensa aplicação de ácido fosfórico e adesivo
Exemplos comerciais	<ul style="list-style-type: none"> ▪ RelyX ARC (3M Espe, St.Paul, EUA) ▪ Variolink II (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) ▪ Enforce (Dentsply, Konstanz, Alemanha) ▪ NX3 (Kerr, Orange, EUA) 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Panavia (Kuraray, Tóquio, Japão) ▪ Multilink N Automix (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ RelyX U200 (3M Espe, St.Paul, EUA) ▪ BisCem (Bisco, Schaumburg, EUA) ▪ SmartCem 2 (Dentsply, Konstanz, Alemanha) ▪ MaxCem Elite (kerr, Orange, EUA)

2.1.1 Composição

De forma geral, a composição básica de um cimento resinoso autoadesivo consiste em uma matriz orgânica com: 1) monômeros metacrilatos convencionais mono-, di- e/ou multi-metacrilatos, já utilizados em uma variedade de materiais dentários resinosos (tabela 2): bisfenol A glicidil metacrilato (Bis-GMA), dimetacrilatos de trietilenoglicol (TEGDMA), dimetacrilato de uretano (UDMA) e hidroxietil metacrilato (HEMA); 2) monômeros ácidos (tabela 3): 4-metacriloxietil anidrido trimelítico (4-META), 4-metacriloxietil trimelítico (4-MET), dimetacrilato glicerol pirometílico (PMGDM), 2-metacriloxietil fenil hidrogênio fosfato (Fenil-P) e 10-metacriloxidecil dihidrogênio fosfato (10-MDP); 3) partículas de carga inorgânica: quartzo, vidro de bário flúoralumino silicato e/ou sílica coloidal; 4) sistema de ativação: química (amina terciária e peróxido de benzoíla) ou por meio de energia luminosa (canforoquinona e amina orgânica); 5) inibidores de polimerização: hidroxitolueno butilado (BHT) e hidroquinona e 6) água: utilizada como veículo ionizador dos monômeros ácidos (FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011).

Tabela 2 – Representação das fórmulas estruturais (FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011) dos principais monômeros convencionais que podem ser utilizados na composição de cimentos resinosos autoadesivos e suas respectivas características.

Monômero	Fórmula estrutural	Características
Bis-GMA		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cadeia linear longa ▪ Anel aromático ▪ Duplas ligações alifáticas de C nas extremidades ▪ Dois grupamentos OH
TEGDMA		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Diluente ▪ Sem anel aromático ▪ Baixo peso molecular (286g/mol) ▪ Baixa viscosidade (DICKENS et al, 2003; SIDERIDOU; TSERKI; PAPANASTASIOU, 2003)
UDMA		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cadeia linear longa ▪ Sem anel aromático ▪ Alto peso molecular ▪ Baixa viscosidade (DICKENS et al, 2003)
HEMA		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Monômero de éster hidroxialquila ▪ Hidrófilo ▪ Baixo peso molecular (130g/mol) ▪ Melhora capacidade de infiltração no substrato dentário

Dentre os monômeros convencionais, o Bis-GMA que é uma molécula de cadeia longa, contém um anel aromático no centro e duplas ligações alifáticas de carbono (C) nas extremidades. As duplas ligações de C clivam-se durante a reação de polimerização, permitindo que um monômero se ligue a outros. O anel aromático confere rigidez enquanto a extensa separação entre as duplas ligações alifáticas confere um aumento de sua reatividade química (PEUTZFELDT, 1997). Também possui dois grupamentos hidroxílicos que aumentam sua viscosidade final

(SIDERIDOU; TSERKI; PAPANASTASIOU, 2003). Devido sua alta viscosidade é necessário a mistura com monômeros diluentes com menor peso molecular para permitir adequada manipulação. O principal monômero diluente é o TEGDMA que se apresenta como uma molécula linear com ligações de carbono em sua extremidade, baixo peso molecular (286g/mol) e baixa viscosidade. Os cimentos resinosos em função da necessidade de alto escoamento, possuem maior concentração de diluentes do que as resinas compostas (SIDERIDOU; TSERKI; PAPANASTASIOU, 2003).

Os monômeros funcionalizados com ácido (tabela 3) são utilizados para realizar a desmineralização do substrato dentinário e unir-se a ele. Comumente, monômeros ácidos são ésteres resultado da reação entre um álcool bivalente com ácido metacrílico e derivados de ácido fosfórico (10-MPD e Fenil-P) ou carboxílicos (4-META, 4-MET e PMGDM) (YOSHIDA et al, 2004). Os monômeros metacrilatos com grupos carboxílicos são ainda predominantes. Mas há um número substancial de novos monômeros ácidos baseados em fosfatos e fosfonatos, que foram desenvolvidos especificamente para realizar a desmineralização da superfície de esmalte e dentina, bem como para promover a formação de um sal estável, envolvendo principalmente o cálcio (FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011).

A concentração dos monômeros ácidos deve ser equilibrada para ser suficientemente baixa a fim de evitar a excessiva hidrofiliabilidade no polímero, mas em quantidade para atingir um grau aceitável de autocondicionamento e de ligação à dentina e esmalte. Excesso de hidrofília pode comprometer a resistência mecânica bem como a estabilidade dimensional do cimento (FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011). Assim que manipulado, o cimento é bastante hidrófilo, o que facilita o molhamento e adaptação na superfície do dente. Tornam-se mais hidrófobos conforme o ácido presente é consumido por meio da reação com o cálcio do dente e de uma variedade de íons advindos do próprio cimento (BELLI et al, 2009, FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011). O potencial de união química por si só é insuficiente para contribuir para o desempenho da união cimento resinoso/substrato dentário (YOSHIDA et al, 2004).

Tabela 3 – Representação das fórmulas estruturais (FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011) dos principais monômeros ácidos que podem ser utilizados na composição de cimentos resinosos autoadesivos e suas respectivas características.

Monômero	Fórmula estrutural	Características
4-META		▪ Grupamento carboxílico
4-MET		▪ Grupamento carboxílico
PMGDM		▪ Grupamento carboxílico
Fenil-P		▪ Grupamento Fosfórico
10-MDP		▪ Grupamento Fosfórico

As partículas de carga utilizadas variam em 60-75% em peso. São compostas geralmente de partícula de sílica, adicionadas para melhorar as propriedades mecânicas (CALLISTER JR; RETHWISCH, 2015), reduzir a solubilidade

e a contração volumétrica do cimento (DIAZ-ARNOLD; VARGAS; HASELTON, 1999). A dissolução parcial da superfície do vidro solúvel em ácido neutraliza a acidez do cimento resinoso e é capaz de fornecer íons sódio, cálcio, silicato e fluoreto que podem fazer parte da reação ou serem liberados ao meio (BELLI et al, 2009). Em alguns cimentos autoadesivos pode ocorrer liberação de flúor quando o ácido reage com as partículas de carga (BURGESS; GHUMAN; CAKIR, 2010).

A presença de inibidores da polimerização são adicionados para controlar a reação de autopolimerização (FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011), evitando a ativação espontânea e aumentando o tempo de trabalho do material. Esse tempo é determinado pela concentração de inibidores bem como pela proporção de iniciador/acelerador (PEGORARO; DA SILVA; CARVALHO, 2007, PEDREIRA et al, 2009).

2.1.2 Reação de polimerização

Os materiais poliméricos, como os cimentos resinosos, são resultados do processo de polimerização de ligações covalentes entre duas ou mais moléculas de monômeros (DARVELL, 2012). De uma forma geral, a reação de polimerização pode ocorrer por adição (polimerização por reação em cadeia), em que as unidades monoméricas se ligam uma de cada vez e o polímero resultante é um múltiplo do monômero inicial, ou por condensação (polimerização por reação em etapas) em que os componentes são bifuncionais e todos são ou tornam-se simultaneamente reativos, podendo ocorrer a eliminação de uma molécula pequena, geralmente água, para cada molécula de monômero reagida (ANUSAVICE, 2005, DARVELL, 2012, CALLISTER JR; RETHWISCH, 2015). De qualquer forma, para que os polímeros sejam formados é necessário que após a reação de cada unidade, a cadeia continue a apresentar um local reativo para a conexão com a próxima unidade (DARVELL, 2012). O processo de polimerização, no entanto, não é totalmente completo, pois sempre haverá monômeros não reagidos no meio (FERRACANE, 1994, YAP; LEE; SABAPATHY, 2000).

A reação de polimerização dos cimentos resinosos pode ser ativada: quimicamente (autopolimerizável), por ação de luz visível (fotopolimerizável) ou de

dupla reação (dual) e sua seleção está diretamente relacionada à indicação de uso (PLATT, 1999). Os cimentos resinosos autopolimerizáveis, induzidos quimicamente a polimerizar seus monômeros, apresentam-se necessariamente com pelo menos dois reagentes (um ativador e um iniciador) que quando em contato, sofrem reação química e geram radicais livres. O iniciador, peróxido de benzoíla, é responsável pelo início da reação de polimerização pois quando energizado apresenta radical livre que reage com as moléculas do monômeros para o crescimento da cadeia. O ativador, amina terciária, age como ativador pois sua presença no meio reduz a energia térmica necessária para quebrar o iniciador em radicais livres na temperatura ambiente (ANUSAVICE, 2005) (figura 1).

Figura 1 – Ativação do peróxido de benzoíla pela presença do ativador em que a ligação –O–O– é quebrada. O ponto adjacente ao oxigênio do radical livre simboliza o elétron não emparelhado. Adaptado de (ANUSAVICE, 2005).

Os cimentos resinosos fotopolimerizáveis, dependem da energia luminosa como ativador para que o iniciador forneça radicais livres para o início da reação de polimerização. O fotoiniciador mais utilizado em polímeros odontológicos é a canforoquinona (NEUMANN et al, 2005) que em conjunto com coiniciador (amina terciária – doador de hidrogênio) geram radicais livres quando irradiadas por luz na região azul-a-violeta do espectro visível (comprimento de onda de 470nm). A canforoquinona ao ser irradiada por luz apropriada passa para um estado de excitação e atrai as moléculas de amina terciária formando um complexo que resulta em um radical amino e um radical cetila. O radical amino é responsável pelo início da reação de polimerização (ALVIM et al, 2007).

Como dependem do agente ativador externo, podem ser apresentadas em pasta única. Oferecem as vantagens clínicas do tempo de trabalho estendido e melhor

estabilidade de cor. No entanto seu uso é limitado em situações em que a energia luminosa não tem condições de alcançar o cimento (CAUGHMAN; CHAN; RUEGGEBERG, 2001), como em restaurações cerâmicas espessas, metálicas e uso de pinos intrarradiculares.

Os cimentos resinosos de ativação dual, associam as características dos dois mecanismos de ativação (química e física pela luz) (BRAGA; CESAR; GONZAGA, 2002). A formação do polímero ocorre após a sensibilização dos fotoiniciadores presentes ao mesmo tempo em que o peróxido de benzoíla reage com a amina terciária (PETERS; MEIERS, 1996). Os dois modos de ativação são suplementares e independentes (PEDREIRA et al, 2009) e iniciam uma dinâmica de formação de radicais livres e conversão de monômeros que naturalmente se sobrepõem durante a polimerização (FLOYD; DICKENS, 2006, PEDREIRA et al, 2009, PFEIFER et al, 2009). Idealmente, trata-se de um material com tempo de trabalho adequado e capaz de atingir um elevado grau de conversão de seus monômeros quer na presença ou na ausência de luz (BRAGA; CESAR; GONZAGA, 2002). A condição esperada seria que ambas reações se completassem, proporcionando total conversão dos monômeros presentes e consequentemente atingindo as propriedades máximas do material (PEGORARO, 2010). No entanto, o que se observa é que o aumento rápido das cadeias poliméricas formadas pela ativação com luz dificulta a movimentação dos radicais livres e a posterior reação de polimerização química (ASMUSSEN; PEUTZFELDT, 2004, PEUTZFELDT; ASMUSSEN, 2005) e restringe o cimento de obter as propriedades máximas (PEGORARO; DA SILVA; CARVALHO, 2007).

Alguns cimentos resinosos duais parecem depender mais da fotoativação e outros mais da ativação química (D'ALPINO et al, 2015). Harashima et al, (1991) observaram valores de grau de conversão para o mesmo cimento de 59-75% na condição autopolimerizável e de 66-81% para fotopolimerizável. O grau de conversão, que se baseia na ligação de unidades de monômeros para formar as longas cadeias de polímero, tem influência nas propriedades físicas e mecânicas dos cimentos resinosos (FERRACANE; GREENER, 1984, ARRAIS; GIANNINI; RUEGGEBERG, 2009, AGUIAR et al, 2015). Pode afetar as propriedades de resistência coesiva (AGUIAR et al, 2015), dureza (BRAGA; CESAR; GONZAGA, 2002), módulo de elasticidade (AGUIAR et al, 2015) e resistência adesiva ao substrato dentário

(PIWOWARCZYK et al, 2007, ARRAIS et al, 2008). A polimerização ineficaz do cimento ainda reflete em inadequada biocompatibilidade (ERGUN; EGILMEZ; YILMAZ, 2011), microinfiltração (DARR; JACOBSEN, 1995) e degradação marginal (VAN MEERBEEK et al, 1992). No entanto, a reação de polimerização pode ser influenciada por vários fatores como composição, conteúdo de partículas inorgânicas, tipo de monômero utilizado (GAJEWSKI et al, 2012), viscosidade (DI FRANCESCANTONIO et al, 2013) e fatores extrínsecos como temperatura (OLIVEIRA et al, 2012), luz do fotopolimerizador (ALQAHTANI; ALSHAAFI; PRICE, 2013), tempo de polimerização (AGUIAR et al, 2010) e densidade de energia (HEO et al, 2013).

O cimento resinoso autoadesivo apresenta polimerização dual porém em um ambiente ácido devido à presença de monômeros funcionais ácidos (DI HIPOLITO et al, 2012). Os monômeros ácidos, dependendo do tipo e concentração, bem como o teor de umidade, produzem pH entre 1,5 e 3 no cimento recém manipulado, que é certamente suficiente para desmineralizar as superfícies do dente (FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011). Porém, as condições de baixo pH interferem na reação do peróxido de benzoíla e amina terciária que formam sais e dos fotoiniciadores que diminuem muito a reação de polimerização, comprometendo a conversão dos monômeros (SUH et al, 2003). Portanto, é importante que o baixo pH seja neutralizado para não influenciar na formação do polímero (DI HIPOLITO et al, 2012, VAZ et al, 2012). Na tentativa de minimizar essa condição, a adição de sulfato de sódio e de bário tem efeito ácido resistente nos fotoiniciadores e nos iniciadores redox (oxirredução) (SUH et al, 2003) assim como a utilização de iniciadores específicos para ambientes ácidos como o 1,3 dimetil,5-fenil barbitúrico em substituição às aminas convencionais (FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011). Alguns materiais adicionam hidróxido de cálcio, que é isoladamente não ácido, para contribuir no aumento da velocidade do processo de neutralização. A inserção de ionômero de vidro com a mesma finalidade, aumentou o pH de 1 para 6 segundo Radovic et al (2008). Conforme a reação de polimerização vai avançando, as ligações entre os grupamentos ácidos e os íons cálcio e alumínio aumentam naturalmente o pH (FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011), assim como a dissolução parcial da superfície das partículas de carga solúveis em ácido que corroboram para neutralização do meio (BELLI et al, 2009).

Assim, deve-se existir um equilíbrio no processo dinâmico com a presença do monômero ácido desmineralizando o substrato dentário coexistindo com a cinética de polimerização (D'ALPINO et al, 2015) de forma que o cimento relativamente hidrófilo, que rapidamente molha a dentina e esmalte úmidos passa para um estado hidrófobo, que limita a incorporação de umidade e a deterioração do material (FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011). Estudos da cinética da reação de polimerização focando no processo de neutralização são escassos na literatura. Um estudo realizado por Han et al (2007) mostraram que na reação de polimerização química de cimentos resinosos autoadesivos, o pH aumenta até 4 nos primeiros 90 segundos de reação seguido por um longo e gradual aumento até 7 em 48 horas.

Nas avaliações sobre o modo de ativação dos cimentos resinosos autoadesivos observou-se uma redução de 30 a 54% quando apenas a polimerização química foi utilizada, comparada com a fotopolimerização (VROCHARI et al, 2009). Porém existe evidência de que no cimento resinoso autoadesivo Rely X Unicem (3M Espe, Seefeld, Alemanha), ocorre polimerização química após 24 horas (grau de conversão [GC]=63,86%) de realizada a fotopolimerização (CG=62%) e mais intensamente depois de 7 dias (CG=70,2%) (BANDÉCA et al, 2009).

2.1.3 União com substrato dentário

A adesão com o substrato dentário é dependente da retenção micromecânica e na interação química entre os grupamentos ácidos e a hidroxiapatita - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH}_2)$ (RADOVIC et al, 2008). Em esmalte, o padrão de desmineralização é baseado em monômeros multifuncionais ácidos que desmineralizam a superfície para que o cimento possa infiltrar-se (DE MUNCK et al, 2004, RADOVIC et al, 2008, FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011). Em dentina, a interação entre a superfície dentária e o cimento resinoso autoadesivo parece ser superficial e irregular, sem desmineralização suficiente da *smear layer* e por consequência, ausência da autêntica camada híbrida e *tags* de resina (DE MUNCK et al, 2004). Por outro lado, com a limitação da abertura dos túbulos dentinários ocorre redução da sensibilidade pós-operatória (CANTORO et al, 2008). Mesmo com a limitação da técnica ácida,

ocorre uma retenção adicional pela ligação química entre os monômeros ácidos e o dente (RADOVIC et al, 2008).

O baixo pH dos cimentos resinosos autoadesivos condiciona a dentina mais facilmente que o esmalte (BURGESS; GHUMAN; CAKIR, 2010), o que pode explicar os resultados de união dos cimentos resinosos autoadesivos em esmalte (3,76 - 6,81 MPa) serem numericamente menores que em dentina (4,48 - 7,4 MPa) (HATTAR et al, 2015, NARANJO; ALI; BELLES, 2015). Mesmo outros estudos mostrando que não há diferença de adesão entre os diferentes substratos dentinários (FERNANDES et al, 2015, RODRIGUES, R.F. et al, 2015), talvez por falta de um protocolo padronizado para análise da resistência de união com o substrato dentário (VAN MEERBEEK et al, 2010), a adesão de cimentos resinosos autoadesivos em esmalte ainda é um fator a ser explorado (FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011).

Alguns estudos mostram a importância de se realizar o condicionamento ácido do esmalte previamente à cimentação (SEKHRI; MITTAL; GARG, 2016) uma vez que os resultados com condicionamento ácido associado ao uso do sistema adesivo ficam muito próximos aos cimentos resinosos convencionais (DE MUNCK et al, 2004, HIKITA et al, 2007) e sem o tratamento os valores são bem aquém (HIKITA et al, 2007). Esses achados podem ser explicados pelas irregularidades microscópicas geradas pelo ácido fosfórico a 37%, resultados da desmineralização dos prismas de esmalte. Entretanto o prévio condicionamento pode ser prejudicial para adesão em dentina uma vez que a alta viscosidade desses cimentos impede sua penetração entre a matriz de colágeno acarretando em união fraca (DE MUNCK et al, 2004).

A estrutura do monômero ácido é criticamente importante, já que apresentam diferentes níveis de união com a hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH}_2)$) (FERRACANE; STANSBURY; BURKE, 2011). O monômero 10-MDP apresenta formação de um sal insolúvel e união ao cálcio significativamente mais forte quando comparado aos monômeros 4-MET (com capacidade de união menor) e Fenil-P (que apresenta sal de cálcio solúvel e baixa capacidade de união) (YOSHIDA et al, 2004). Em estudo realizado por Misra (1989) a união entre monômero 4-META e o dente foi apenas micromecânica e não de natureza química. A fórmula molecular específica do

monômero funcional e a velocidade de dissolução subsequente do seu sal de cálcio irão determinar a eficácia da união e estabilidade (YOSHIDA et al, 2004)

Essa união química primária à hidroxiapatita foi demonstrado pela primeira vez por meio de espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS) (YOSHIDA et al, 2004), posteriormente confirmada por meio de difração de raios-X (XRD) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) (FUKEGAWA et al, 2006, YOSHIHARA et al, 2010). XRD revelou que, adicionalmente, a união de 10-MDP ao cálcio da hidroxiapatita é acompanhada de uma estrutura em camada de 4nm de espessura. Porém para os monômeros 4-MET e Fenil-P essa camada não foi encontrada (YOSHIHARA et al, 2010). Cada camada deste nanolaminado consiste em duas moléculas de 10-MDP com seu grupo metacrilato voltado um para o outro e um hidrogênio funcional do grupo fosfato direcionado contrário ao outro (YOSHIHARA et al, 2010). Mesmo presente tanto em esmalte quanto em dentina, resultados de microscopia eletrônica de transmissão (MET) confirmaram que as nanocamadas são morfologicamente distintas para esmalte e dentina, sendo mais visíveis em dentina (YOSHIHARA et al, 2011).

2.1.4 Considerações clínicas

Como os cimentos resinosos autoadesivos são os mais recentes dentre os cimentos resinosos, artigos clínicos de longo prazo ainda não foram reportados na literatura científica. Porém alguns estudos têm mostrado resultados similares aos cimentos resinosos convencionais no desempenho clínico de restaurações indiretas cimentadas com cimento resinoso autoadesivo no período de até 6,5 anos (SCHENKE et al, 2012, TASCHNER et al, 2012, PEUMANS et al, 2013, BAADER et al, 2016, MARCONDES et al, 2016).

Peumans et al (2013) avaliaram o comportamento clínico de *inlays* e *onlays* de cerâmicas reforçadas com leucita, cimentadas com cimento resinoso autoadesivo, com e sem aplicação de ácido fosfórico em esmalte. Concluíram, em 4 anos de avaliação, que o cimento resinoso autoadesivo pode ser indicado como escolha para esse tipo de restauração indireta e que o condicionamento seletivo do esmalte não resultou em melhora significativa do desempenho clínico. O mesmo resultado foi

encontrado para avaliação de 6,5 anos em restaurações parciais de cerâmica feldspática (BAADER et al, 2016). No entanto, mesmo o fator aplicação de ácido no esmalte não ter sido relevante, critérios de adaptação e descoloração marginal apresentaram significativa piora com o passar dos anos para as duas condições (FEDERLIN; HILLER; SCHMALZ, 2014, BAADER et al, 2016). São critérios que apresentam relação entre si (MOLIN; KARLSSON, 2000, FRANKENBERGER et al, 2008, PEUMANS et al, 2013), como observado no estudo de Belli et al (2009), em que os cimentos resinosos autoadesivos apresentaram maior desgaste abrasivo e degrau marginal quando comparados aos cimentos convencionais e favoreceram o desenvolvimento de descoloração marginal.

Quando comparado ao cimento de fosfato de zinco em restaurações com infraestrutura metálica, a taxa de sucesso dos cimentos resinosos autoadesivos foi de 100% para 3 anos de avaliação clínica (BEHR et al, 2009). Quando a resina composta foi utilizada como material para restauração indireta também não houve diferença entre cimento resinoso autoadesivo e convencional no período de 12 meses (MARCONDES et al, 2016).

2.1.5 RelyX U200

Lançado em 2012 pela 3M Espe (Seefeld, Alemanha), apresenta características aperfeiçoadas de reologia e resistência de união em esmalte e dentina em relação aos seus antecessores RelyX Unicem (primeiro cimento resinoso autoadesivo lançado no mercado odontológico em 2002) e RelyX U100. Segundo instruções do fabricante, apresenta proporção de partículas inorgânicas de 70% em peso e tamanho médio de 12,5µm. As principais indicações e preparo do remanescente dentário e da restauração indireta estão discriminados na tabela 4.

O tempo de trabalho é de 2 minutos a partir do início da mistura (20 segundos de manipulação) em temperatura ambiente. Quando se utiliza o protocolo de fotoativação, é indicado a aplicação de 20 segundos de energia luminosa para cada face da restauração indireta. Na condição autopolimerizável o tempo de presa previsto

em bula após o início da mistura é de 6 minutos. A figura 2 mostra a apresentação comercial em embalagem do tipo Clicker e Automix.

Tabela 4 – Informações descritas na bula do fabricante do cimento RelyX U200. Indicações, preparo do remanescente dentário e da restauração indireta.

Indicações	Preparo do remanescente dentário	Tratamento da restauração
Cimentação de inlays, onlays, coroas e próteses fixas metálicas.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Profilaxia com pasta de pedra pomes, lavagem e secagem leve; a cavidade deve estar seca de forma que a superfície tenha um aspecto sedoso e leve brilho. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Asperização da superfície interna com óxido de alumínio $\leq 40\mu\text{m}$. ▪ Limpeza da superfície com álcool e secagem com jato de ar livre de umidade e óleo.
Cimentação de inlays, onlays, coroas e próteses fixas de cerâmicas vítreas condicionáveis.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Profilaxia com pasta de pedra pomes, lavagem e secagem leve; a cavidade deve estar seca de forma que a superfície tenha um aspecto sedoso e leve brilho. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Condicionamento da superfície interna com ácido fluorídrico ▪ Lavar com água em abundância por 15 segundos e secar com jato de ar livre de umidade e óleo. ▪ Aplicação do silano por 5 segundos e secagem com jato de ar para evaporação do solvente.
Cimentação de inlays, onlays, coroas e próteses fixas de cerâmicas de zircônia e alumina.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Profilaxia com pasta de pedra pomes, lavagem e secagem leve; a cavidade deve estar seca de forma que a superfície tenha um aspecto sedoso e leve brilho. 	<p>Alternativa 1:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Asperização da superfície interna com óxido de alumínio $\leq 40\mu\text{m}$. ▪ Limpeza da superfície com álcool e secagem com jato de ar livre de umidade e óleo. <p>Alternativa 2:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Silicatização com CojetPrep ou Rocatec, distância de 2-10mm por 15 segundos. ▪ Limpeza da superfície com álcool e secagem com jato de ar livre de umidade e óleo. ▪ Aplicação do silano por 5 segundos e secagem com jato de ar para evaporação do solvente.
Cimentação de inlays, onlays, coroas e próteses fixas de compósitos.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Profilaxia com pasta de pedra pomes, lavagem e secagem leve; a cavidade deve estar seca de forma que a superfície tenha um aspecto sedoso e leve brilho. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Asperização da superfície interna com óxido de alumínio $\leq 40\mu\text{m}$. ▪ Limpeza da superfície com álcool e secagem com jato de ar livre de umidade e óleo.
Cimentação de pinos de fibra de vidro.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Remoção da obturação do canal radicular deixando 4mm de guta percha na região apical. ▪ Limpeza do canal radicular com hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2,5-5,25% ▪ Lavagem com água e secagem com cones de papel ▪ Recomendação da utilização de isolamento absoluto. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Limpeza da superfície com álcool e secagem com jato de ar livre de umidade e óleo. ▪ Aplicação de silano de acordo com as instruções uso de cada pino.

Figura 2 – A) Embalagem do tipo Clicker do cimento RelyX U200 em que as duas pastas são dispensadas na mesma proporção. B) Embalagem do tipo Automix do cimento RelyX U200 em que as pastas são misturadas pela ponta misturadora acoplada. (Imagens disponíveis em: www.solutions.3m.com.br).

2.2 NANOESTRUTURAS

Nanotecnologia, também conhecida como nanociência, é definida pela criação e manipulação de materiais e estruturas funcionais com dimensões de 0,1 a 100 nm em pelo menos uma de suas direções (CHEN, M.H., 2010). O desenvolvimento de materiais nanoestruturados estão no cerne do desenvolvimento tecnológico atual. Com a redução do tamanho das partículas é possível alterar as propriedades macroscópicas do material de forma a aprimorar e criar novas aplicações. Isso porque suas propriedades não podem ser previstas baseadas no seu homólogo de tamanho padrão (PODILA; BROWN, 2013), uma vez que possuem uma enorme área de superfície por unidade de volume e alta proporção de átomos superficiais (RODRIGUES, J.A.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, 2007). Nas últimas duas décadas, a capacidade de adaptar nanomateriais com propriedades físico-químicas únicas, abriu novos caminhos para inúmeras aplicações nas áreas de eletrônica, química, biológica e médica com o objetivo de aumentar a qualidade global dos produtos (PODILA; BROWN, 2013).

Um dos efeitos do processo de diminuição de partículas em escala tão reduzida é o aumento dos defeitos na superfície que podem ser topológicos (decorrentes da diferença de formas), dopantes (adição de elementos), defeitos de ligações incompletas (vacâncias – ausência de um átomo ou íon na rede cristalina e

deslocações), assim como limites de grão e de estado de superfície. A presença desses defeitos oferece locais muito reativos devido a diferentes desequilíbrios na estrutura cristalina (PODILA; BROWN, 2013).

O tamanho da partícula em escala nanométrica pode influenciar três importantes propriedades dos materiais: 1) características estruturais: o reduzido tamanho pode induzir alterações na termo-estabilidade dinâmica e levar às transformações estruturais (SCHOISWOHL et al, 2004). A medida que o tamanho das partículas diminui, há um aumento do número de átomos de superfície e de interface acarretando em tensões/deformações e desordens estruturais (RODRIGUES, J.A.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, 2007); 2) propriedades eletrônicas: a nanoestrutura produz o efeito de confinamento dos pares de elétrons que acarreta em um aumento da energia entre a banda de valência e a banda de condução (*bandgap*) do material em função da diminuição do tamanho das partículas com forte influência na condutividade elétrica (BRUS, 1986) e 3) propriedades físico-químicas: as alterações estruturais e eletrônicas levam a mudanças nas propriedades físicas e químicas do material (RODRIGUES, J.A. ; FERNÁNDEZ-GARCÍA, 2007). Em seu estado macroscópico, muitos óxidos apresentam baixa reatividade e com a diminuição do tamanho e aumento da magnitude do intervalo de *bandgap* ocorre um aumento da reatividade química e condutividade do material.

Óxidos metálicos têm sido amplamente explorados em aplicações nanotecnológicas pela sua funcionalidade. São compostos iônicos constituídos de elementos metálicos positivos e íons de oxigênio negativos que resultam em ligações iônicas fortes, com boa estabilidade térmica e química (DEVAN et al, 2012)

Em nanoescala, as estruturas podem variar não apenas em tamanho, mas também em morfologia. Alguns nanomateriais são classificados como 1D (1 dimensão) como por exemplo, os nanofios, nanobastões, nanotubos e nanoagulhas (DEVAN et al, 2012). Sua espessura fica restrita entre 1 e 100 nm mas podem apresentar comprimento em unidades maiores como μm ou poucos mm, permitindo assim o contato dessas estruturas com o cenário macroscópico (ARRUDA, 2015). A síntese de nanoestruturas em 1D de óxidos metálicos podem melhorar consideravelmente suas propriedades, tornando-os aplicáveis para uma ampla aplicação em diferentes materiais. As outras formas são em 2D (2 dimensões), como as nanofolhas e em 3D (3 dimensões), as nanoesferas (DEVAN et al, 2012).

2.2.1 Nanotubos de TiO_2

As primeiras nanoestruturas desenvolvidas em formato de tubos foram de carbono e obtidas por (IIJIMA, 1991). A partir de então, novas técnicas e variáveis de síntese foram exploradas para controlar o desenvolvimento dos nanotubos: o controle do tamanho do diâmetro e ângulo quiral (ângulos formados pelas pontas que sobram quando a folha não está perfeitamente alinhada), que interferem na aplicação desses materiais e o desenvolvimento de nanotubos com diferentes composições químicas, como os óxidos semicondutores (ARRUDA, 2015). Os nt- TiO_2 ganharam destaque por apresentarem boas propriedades eletrônicas, fotocatalíticas (GRABOWSKA et al, 2014) e especialmente em biomateriais, por apresentar boa biocompatibilidade e propriedades antimicrobianas (ELSAKA; HAMOUDA; SWAIN, 2011).

O TiO_2 é um semicondutor óxido que pode ser encontrado em três fases polimorfas diferentes, sendo elas: anatase e rutilo, ambas com estrutura tetragonal; e brookita, com estrutura ortorrômbica (Figura 3).

Figura 3 – Representação esquemática do polimorfos do TiO_2 . Parte azul das figuras representa o Titânio e os pontos vermelhos o Oxigênio. A) Anatase. B) Rutilo e C) Brookita. Adaptado de (DAMODARAN et al, 2015).

A fase anatase é obtida em temperaturas baixas, até 400 °C. A temperatura de transição para fase rutilo é em média 800 °C (variando por fatores como impurezas presentes, tamanho de partícula primária e concentração de defeitos) (MOR et al,

2006). A fase brookita é a menos densa. A estabilidade da fase pode ser revertida quando ocorre a diminuição do tamanho da partícula. A energia de superfície e tensões superficiais tem um efeito significativo sobre a estabilidade. Se o tamanho das três fases cristalinas é igual, anatase é termodinamicamente estável em tamanhos inferiores a 11nm, brookita mais estável entre 11 e 35 nm, e rutilo em tamanhos maiores que 35nm (ARRUDA, 2015).

A síntese de nt-TiO₂ pode ser realizada basicamente por dois métodos: síntese por *template* (LEE et al, 2005) ou sem *template* (KASUGA et al, 1999, ARRUDA et al, 2015). Cada um dos métodos apresenta vantagens e características funcionais. No método de *template*, a escala do nanotubo pode ser controlada por meio de moldes (KULKARNI et al, 2015), resultando em maior homogeneidade (ARRUDA et al, 2015). No entanto, geralmente a remoção dos moldes pode resultar em acúmulo de impurezas (KULKARNI et al, 2015). No método sem *template*, como a síntese hidrotermal, os nanotubos são formados por meio de síntese alcalina seguida de sucessivos tratamento térmicos e lavagens em meio ácido (KASUGA et al, 1999, ARRUDA et al, 2015), formando uma fase cristalina em uma única etapa, em um recipiente fechado (KULKARNI et al, 2015).

Os nt-TiO₂ combinam propriedades de uma estrutura em camadas com as propriedades e aplicações das nanopartículas de TiO₂ convencionais (ARRUDA, 2015). As propriedades físico-químicas únicas desses nanoestruturados juntamente com sua morfologia diferenciada fazem esses materiais promissores e aplicáveis em diferentes áreas (GRABOWSKA et al, 2014).

2.2.2 Nanoestruturas em materiais resinosos odontológicos

Alguns resinas compostas já apresentam partículas em escala nanométrica em sua composição, com a finalidade de reduzir a contração de polimerização e melhorar as características físicas (CHEN, M.H., 2010). A primeira resina composta disponível comercialmente a incorporar nanopartículas foi a Filtek Supreme (3M ESPE, St. Paul, EUA), contendo partículas nanométricas de sílica (20 e 75 nm de diâmetro) e nanoaglomerados sintetizados a partir de uma solução coloidal de sílica e zircônio (<0,6µm) (CHEN, M.H, 2010). A resina composta Premise (Kerr/Sybron,

Orange, EUA) também apresentam nanopartículas de sílica de 20nm e a resina Ceram-X (Dentsply, Konstanz, Alemanha) apresenta partículas de polisiloxano modificado com metacrilato de 2-3nm além de nanocerâmica. As nanopartículas dispersas na matriz permitem o aumento do volume de carga inserido resultando no aumento da dureza, resistência à abrasão e à fratura, melhor condição de polimento e redução da contração e tensão de polimerização (BAUER et al, 2003).

Nanofibras de nylon 6 contendo monocristal de silicato (média de 250nm diâmetro) foram adicionados ao Bis-GMA e TEGDMA com intuito de melhorar as propriedades mecânicas dos materiais resinosos. Os resultados mostraram melhora significativa para adição de frações de 1% e 2% (em volume) e menos desejáveis para frações maiores (4 e 8%) para resistência flexural, módulo de elasticidade e tenacidade à fratura (TIAN et al, 2007).

Nanoestruturas de TiO_2 também têm sido utilizadas como aditivo em materiais dentários, uma vez que se apresenta como um material multifuncional muito eficaz (CARP; HUISMAN; RELLER, 2004, X. CHEN; MAO, 2007). Muitos métodos utilizam técnicas de funcionalização das partículas de TiO_2 (XIA et al, 2008, VO; KIM; KIM, 2009, SUN et al, 2011, DAFAR et al, 2016) com o objetivo de minimizar a formação de aglomerados e melhorar substancialmente suas propriedades. Nanopartículas de TiO_2 (<20 nm) foram funcionalizadas com organosilanos e adicionadas e misturadas manualmente na resina composta Z100 (3M Espe, St.Paul, EUA) em diferentes proporções em peso. Incorporação de partículas não funcionalizadas também foram incluídas no estudo. Verificou-se que a modificação da superfície das nanopartículas com silano influenciou na dispersão e na união com a matriz resinosa e melhorou as propriedades de dureza e resistência à flexão (XIA et al, 2008). Resultados similares foram encontrados no estudo de Sun et al (2011) que obtiveram valores de módulo de elasticidade 48% maior do que a resina composta sem aditivo e dureza duas vezes maior para a concentração de 0,06% em peso. O grau de conversão aumentou 5% quando utilizada a concentração de 0,08% em peso.

Em estudo de Dafar et al (2016), resina composta de baixa viscosidade foi aditivada com nt-TiO_2 funcionalizados com silano ou ácido metacrílico, ambos agentes com grupos funcionais que se ligam quimicamente ao material resinoso, com a finalidade de melhorar as propriedades mecânicas. Os resultados foram promissores

para adição de 3% em peso de funcionalizados com ácido metacrílico para tenacidade à fratura, módulo de Young e biocompatibilidade com mínima diminuição de fluidez e radiopacidade.

Outros estudos, apresentam a incorporação da nanopartículas de TiO_2 sem funcionalização. A adição de 1% de nanopartículas de TiO_2 em cimento ortodôntico Transbond XT (3M Unitek, Monrovia, EUA) resultou em melhora nas propriedades antibacterianas (POOSTI et al, 2013). Resultados similares foram obtidos em outros estudos após a incorporação de nanopartículas de TiO_2 em pó de cimento de ionômero de vidro, melhorando suas propriedades antibacterianas e mecânicas (ELSAKA; HAMOUDA; SWAIN, 2011, GARCIA-CONTRERAS et al, 2015) e pela adição de nt- TiO_2 que melhorou as propriedades físico-químicas sem prejuízo das propriedades biológicas (CIBIM, 2016).

Resultados positivos foram obtidos após incorporação de nt- TiO_2 em resinas compostas. As concentrações de 0,1, 0,3 e 0,6% foram utilizadas com diferentes tempos de aplicação da luz do fotopolimerizador (5, 10, 15, 20 e 25 segundos). Quanto maior a porcentagem mássica de nanotubos adicionados à resina, maior foi o grau de conversão, sendo o aumento também obtido para tempos menores de fotopolimerização. Os valores de módulo de elasticidade e dureza foram melhores para a concentração de 0,1%. Os nt- TiO_2 apresentaram efeito antimicrobiano para *Streptococcus Mutans* quando analisados isoladamente. Quando incorporados na resina composta não apresentaram efeito significativo (ARRUDA, 2015).

Diante dos resultados favoráveis descritos na literatura para muitas propriedades dos polímeros odontológicos que apresentam nanoestruturas em sua composição, a adição de nt- TiO_2 com a finalidade de se maximizar as propriedades dos cimentos resinosos autoadesivos é de alta relevância, visto que são indicados para regiões com passagem de luz dificultada ou ausente. Mesmo sendo duais não apresentam a mesmo comportamento nos dois modos de polimerização.

3 PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

3.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar o cimento resinoso autoadesivo RelyX U200 aditivado de nt-TiO₂ quanto às suas propriedades de grau de conversão, sorção e solubilidade, resistência flexural, dureza, resistência de união com Y-TZP e viabilidade celular indireta frente à fibroblastos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Avaliar o efeito da adição de diferentes concentrações de nt-TiO₂ (0,3% 0,6% e 0,9% em peso) no grau de conversão de cimento resinoso autoadesivo em duas condições de polimerização (autopolimerizável e dual) e em diferentes tempos (3, 6, 9, 12 e 15 minutos);
 - 2- Avaliar o efeito da adição de diferentes concentrações de nt-TiO₂ (0,3% 0,6% e 0,9% em peso) na sorção e solubilidade, resistência flexural, dureza, resistência de união com Y-TZP em duas condições de polimerização (autopolimerizável e dual),
 - 3- Avaliar o efeito da adição de diferentes concentrações de nt-TiO₂ (0,3% 0,6% e 0,9% em peso) e em diferentes tempos (24, 48 e 72 horas) na viabilidade celular indireta frente à fibroblastos.
-

4 MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Investigou-se o efeito da adição de diferentes concentrações de nt-TiO₂ no cimento resinoso dual autoadesivo RelyX U200 em algumas propriedades físico-químicas, mecânicas e biológicas. Para a variável resposta grau de conversão, os fatores de estudo foram: 1) tratamento em termos de concentração de nt-TiO₂, dividido em três níveis (0,3, 0,6 e 0,9% em peso), 2) condição de polimerização, dividido em dois níveis (autopolimerizável e polimerização dual) e 3) tempo, dividido em 5 níveis (3, 6, 9, 12 e 15 minutos) (figura 4).

Figura 4 – Representação esquemática - delineamento experimental com fatores e níveis da variável resposta grau de conversão.

Para as variáveis resposta sorção e solubilidade, resistência flexural, módulo de elasticidade, dureza e resistência de união ao cisalhamento os fatores de estudo foram: 1) tratamento em termos de concentração de nt-TiO₂, dividido em três níveis (0,3, 0,6 e 0,9% em peso) e 2) condição de polimerização, dividido em dois níveis (autopolimerizável e polimerização dual) (figura 5).

Para a variável resposta viabilidade celular indireta os fatores de estudo foram: 1) tratamento em termos de concentração de nt-TiO₂, dividido em três níveis (0,3, 0,6 e 0,9% em peso) e 2) tempo, dividido em 3 níveis (24, 48 e 72 horas) (figura 6).

Figura 5 – Representação esquemática - delineamento experimental com fatores e níveis das variáveis resposta sorção e solubilidade, resistência flexural, módulo de elasticidade, dureza e resistência de união ao cisalhamento.

Figura 6 – Representação esquemática - delineamento experimental com fatores e níveis da variável resposta viabilidade celular indireta.

4.2 SÍNTESE DOS NANOTUBOS DE TiO₂

Os nt-TiO₂ foram sintetizados pelo método alcalino (ARRUDA et al, 2015) no Laboratório de Materiais Avançados, do Departamento de Física, da Faculdade de Ciências da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (Bauru, SP) sob a orientação do Prof. Dr. Paulo Noronha Lisboa-Filho e gentilmente cedidos para este estudo.

As amostras de nt-TiO₂ foram obtidas da mistura de pó comercial de TiO₂ anatase (Sigma Aldrich, St.Louis, EUA) misturados à solução alcalina de hidróxido de sódio (NaOH) (10M) que permaneceram por 24 horas a 120°C e pressão atmosférica ambiente em recipiente de Teflon. Em seguida, a mistura foi lavada com água deionizada e solução de ácido clorídrico (HCl) (0,1M), sequencialmente e repetidamente até alcançar o pH 4 e então levadas a secagem a 200°C por 24 horas

(ARRUDA et al, 2015). Os nanotubos utilizados apresentavam em média 10 nm de diâmetro e 200nm de comprimento, formados por uma única folha de TiO_2 enrolada em espiral (ARRUDA et al, 2015).

4.3 PREPARO DO CIMENTO RESINOSO

Três diferentes concentrações (0,3%, 0,6% e 0,9% em peso) de nt- TiO_2 foram adotadas com base em estudos prévios (SUN et al, 2011, ARRUDA, 2015) e adicionadas ao cimento resinoso RelyX U200. Material, composição e marca comercial estão descritos na tabela 5.

Tabela 5 – Material (cimento resinoso autoadesivo), composição e marca comercial.

Material	Composição	Marca Comercial
Cimento resinoso RelyX U200	Pasta base: Pó de vidro tratado com silano (45-55% em peso), ácido propenóico, 2-metil, 1,1'-[1-(hidroximetil)-1,2-etanodiol] éster (20-30% em peso), dimetacrilato de trietilenoglicol (TEGDMA) (10-20% em peso), sílica tratada com silano (1-10% em peso), fibra de vidro (<3% em peso), persulfato de sódio (<3%) e Terc-butil 3,5,5-trimetil peroxihexanoato (<0,5% em peso). Pasta catalizadora: Pó de vidro tratado com silano (50-70% em peso), dimetacrilato substituída (20-30% em peso), sílica tratada com silano (<5% em peso), p-toluenosulfonato de sódio (<5% em peso), 1-benzil-5-fenil-ácido bórico, sal de cálcio (<5% em peso), 1,12-dodecano dimetacrilato (<5% em peso), hidróxido de cálcio (<2% em peso), dióxido de titânio (<0,5% em peso), amina metacrilada (<0,5% em peso).	3M ESPE, Seefeld, Alemanha
RelyX U200 + 0,3% em peso de nt- TiO_2	Pasta base: mesma composição descrita acima Pasta catalizadora: mesma composição descrita acima 0,3% em peso de nt- TiO_2	Sem marca comercial
RelyX U200 + 0,6% em peso de nt- TiO_2	Pasta base: mesma composição descrita acima Pasta catalizadora: mesma composição descrita acima 0,6% em peso de nt- TiO_2	Sem marca comercial
RelyX U200 + 0,9% em peso de nt- TiO_2	Pasta base: mesma composição descrita acima Pasta catalizadora: mesma composição descrita acima 0,9% em peso de nt- TiO_2	Sem marca comercial

Os nt-TiO₂ foram adicionados manualmente ao cimento resinoso. Para isso, cada dose de cimento composta da mesma proporção de pasta base e pasta catalisadora (dispensadas pela embalagem do tipo *clicker*) foi pesada em balança de precisão de 0,0001 g (Denver Instrument, São Paulo, Brasil) (figura 7A) e calculado o valor de nanotubos correspondente à % em peso do cimento (figura 7B). Os nanotubos foram pesados, adicionados primeiramente na pasta base e manipulados por 10 segundos. Em seguida a pasta base adicionada de nt-TiO₂ foi misturada à pasta catalisadora por mais 10 segundos. A manipulação foi padronizada e realizada em bloco de espatulação por meio de espátula 24F (SS White, Duflex, Rio de Janeiro, Brasil) (figura 7C).

Figura 7 – A) Pesagem do cimento resinoso autoadesivo RelyX U200. B) Pesagem dos nt-TiO₂. C) Mistura das pastas base e catalisadora após a incorporação dos nt-TiO₂.

4.3.1 Polimerização do cimento resinoso autoadesivo

Duas condições de polimerização foram utilizadas: autopolimerizável e polimerização dual. Para a condição autopolimerizável, a manipulação do cimento e a confecção das amostras foram realizadas em ambiente com luz natural. Trinta minutos após a manipulação do cimento, as amostras foram removidas dos dispositivos utilizados em cada teste e armazenadas em água destilada a 37°C. A condição autopolimerizável simula a utilização do cimento resinoso autoadesivo em restaurações indiretas com infraestruturas de Y-TZP em que não há passagem de energia luminosa advinda do fotopolimerizador. Para a condição dual, as amostras

foram manipuladas em ambiente com luz natural, inseridas nos dispositivos utilizados em cada teste e fotopolimerizadas com fonte de LED DB 686 (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil) após 9 minutos a uma distância fixa de aproximadamente 5 mm por 20 segundos. A condição dual proposta simula a utilização do cimento resinoso autoadesivo em restaurações indiretas com infraestruturas de Y-TZP em que o cimento das margens da restauração recebe luz do fotopolimerizador após alguns minutos da cimentação. Os grupos experimentais para cada condição de polimerização estão descritos na tabela 6.

Tabela 6 – Condições de polimerização e grupos experimentais.

Condição de Polimerização	Grupos	Descrição do grupo
Autopolimerizável	AC	Controle (sem adição de nanotubos)
	A03	Adição de 0,3% em peso de nanotubos de TiO ₂
	A06	Adição de 0,6% em peso de nanotubos de TiO ₂
	A09	Adição de 0,9% em peso de nanotubos de TiO ₂
Dual*	DC	Controle (sem adição de nanotubos)
	D03	Adição de 0,3% em peso de nanotubos de TiO ₂
	D06	Adição de 0,6% em peso de nanotubos de TiO ₂
	D09	Adição de 0,9% em peso de nanotubos de TiO ₂

*Fotopolimerização após 9 minutos da manipulação

4.4 GRAU DE CONVERSÃO

Para a análise das medidas do grau de conversão foi utilizada a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), utilizando-se o espectrofotômetro IRPrestige-21 (Shimadzu, Tokyo, Japão; figura 8A). Amostras do cimento (n=3) foram analisadas nos tempos de 0, 3, 6, 9, 12, 15 minutos nas duas condições de polimerização: autopolimerizável e dual. A análise foi realizada no modo de refletância por meio do acessório de reflectância total atenuada (ATR) MIRacle™ (PIKE Technologies, Madison, EUA; figura 8B).

Figura 8 – A) Espectrofotômetro IRPrestige-21. B) Acessório de refletância total atenuada (ATR) MIRacle™ equipado com cristal de diamantes/ZnSe de reflectância única.

Com o ATR calibrado e após a realização do espectro de referência (*background*) cada porção de cimento a ser avaliado foi dispensado sobre o cristal do MIRacle (diamantes/ZnSe) com o auxílio de um gotejador Piter Thomas N.2 (Jon, São Paulo, Brasil) cobrindo inteiramente o cristal (figura 8B) em ambiente com luz natural, com humidade do ar próximo de 45% e temperatura controlada de 20°C. A primeira varredura foi realizada imediatamente (0 minutos) após a colocação do cimento, utilizando-se o programa IRsolution (Shimadzu, Colômbia, MD, EUA). As demais varreduras foram realizadas nos tempos já descritos até 15 minutos. Para o grupo de polimerização dual, em 9 minutos foi realizada a fotopolimerização com fonte de LED DB 686 (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil) a uma distância fixa de aproximadamente 5 mm por 20 segundos, como recomendado pelo fabricante. O espectro do infravermelho da amostra foi obtido no intervalo de 1560 a 1760 cm^{-1} , com 10 varreduras consecutivas e resolução de 4 cm^{-1} . Bandas espectrais foram obtidas e os picos de comprimento de onda de 1638 cm^{-1} (grupos funcionais C=C) e de 1608 cm^{-1} (grupo fenil associado ao anel aromático) foram identificados para cada tempo estudado (figura 9). O grau de conversão da amostra foi calculado por meio da equação:

$$\text{GC (\%)} = 100 \times [1 - (\text{RXminutos} / \text{R0minutos})] \quad \text{Equação I}$$

, onde R é a razão entre a absorbância em 1638 cm^{-1} e absorbância em 1608 cm^{-1} no tempo determinado para cada registro da análise (representado pelo X na equação).

Figura 9 – Picos em 1608 e 1638 cm^{-1} identificados nas bandas espectrais utilizadas para o cálculo do grau de conversão antes da polimerização (0 minutos) e de depois da polimerização (3,6,9,12 e 15 minutos).

4.4.1 Análise estatística – grau de conversão

Os valores de grau de conversão (%) encontrados para cada grupo nos diferentes tempos foram submetidos à verificação de normalidade da distribuição amostral (Kolmogorov-Smirnov). Constatado a aderência dos mesmos à curva normal, os testes de Análise de Variância de medidas repetidas seguido de comparações múltiplas de Tukey foram aplicados com nível de significância de 5%. O programa estatístico utilizado foi Statistica (StatSoftInc,Tulsa, OK, EUA).

4.5 SORÇÃO E SOLUBILIDADE

Para o teste de sorção e solubilidade foram confeccionadas amostras ($n = 8$) para cada um dos 8 grupos por meio de uma matriz metálica em formato cilíndrico de 10 mm de diâmetro e 1 mm de espessura (figura 10).

Figura 10 – A) Matriz cilíndrica para confecção das amostras. B) Discos de cimento resinoso após polimerização.

A metodologia realizada foi baseada na ISO 4049 (2009) e na metodologia descrita por Moreira et al (2010). Após preencher o molde com o cimento resinoso, uma tira matriz de poliéster foi utilizada para cobrir o material com o objetivo de produzir uma superfície lisa e plana.

As amostras foram armazenadas em recipiente contendo sílica a uma temperatura de 37°C e pesados diariamente em balança de precisão de 0,0001g (Denver Instrument, São Paulo, Brazil) até a obtenção de uma massa constante para cada amostra (M1). Os valores de M1 foram anotados em tabela e em seguida as amostras foram imersas em água deionizada a temperatura constante de 37°C. Em intervalos fixos, as amostras foram retiradas da água, secas (utilizando-se em sequência dois papéis absorventes) e pesadas até se obter uma massa constante M2 que também foram anotadas em tabela. As amostras foram então levadas novamente ao dessecador na presença de sílica, a uma temperatura de 37°C e pesadas diariamente até a obtenção de uma massa constante M3. O cálculo dos valores de sorção de água foi realizado por meio da equação II e de solubilidade pela equação III:

$$W_{sp} = \frac{(M_2 - M_3)}{V} \quad \text{Equação II}$$

$$W_{sl} = \frac{(M_1 - M_3)}{V} \quad \text{Equação III}$$

, onde W_{sp} é sorção de água em $\mu\text{g}/\text{mm}^3$; W_{sl} a solubilidade de água em $\mu\text{g}/\text{mm}^3$; M_1 é a massa da amostra antes da imersão em água destilada; M_2 é a massa da amostra após a imersão em água destilada; M_3 é a massa da amostra após imersão e dessecação e V o volume da amostra em mm^3 .

4.5.1 Análise estatística – sorção e solubilidade

Os valores de sorção e solubilidade encontrados para cada grupo foram submetidos à verificação de normalidade da distribuição amostral (Kolmogorov-Smirnov). Constatado a aderência dos mesmos à curva normal, os testes de Análise de Variância a dois critérios seguido de comparações múltiplas de Tukey foram aplicados com nível de significância de 5%. Correlação de Pearson foi realizada entre sorção e solubilidade para cada concentração de nt-TiO_2 adicionada nas duas condições de polimerização. O programa estatístico utilizado foi Statistica (StatSoftInc, Tulsa, OK, EUA).

4.6 PROPRIEDADES MECÂNICAS

4.6.1 Resistência flexural (σ_f) e módulo de elasticidade (E)

Dez barras de cimento resinoso foram confeccionadas para cada grupo nas duas diferentes condições de polimerização. Após a manipulação do cimento

resinoso, o mesmo foi incluído em dispositivo metálico de aço inoxidável para a padronização das dimensões das amostras em 2 × 2 × 25 mm como recomendado pela ISO 9917-2 (2010) (figura 11).

Figura 11 – A) Dispositivo metálico para confecção das amostras de cimento resinoso. B) Amostras em formato de barra após a polimerização.

As amostras permaneceram em água destilada e temperatura controlada de 37°C por 24 horas antes do teste. A resistência à flexão em três pontos (σ_f) foi determinada utilizando-se máquina universal de ensaio Instron (Instron, Barueri, Brasil) com célula de carga conectada de 50N e velocidade constante do ensaio de 0,5 mm/min. As dimensões dos espécimes foram mensuradas previamente ao ensaio de flexão com paquímetro digital (Starret, Itu, São Paulo, Brasil), e inseridas no programa de ensaios. Para a realização do ensaio de flexão em três pontos, os espécimes foram colocados no dispositivo (figura 12), mantendo-se a distância de 12 mm entre os apoios cilíndricos inferiores e a carga aplicada no centro da haste metálica superior.

Os valores de resistência à flexão foram determinados de acordo com a equação:

$$\sigma_f = \frac{3Pl}{2wb^2} \quad \text{Equação IV}$$

, onde P é a carga de fratura (N), l é a distância entre os apoios (12 mm), w é a largura da amostra (mm) e b é a sua espessura (mm).

Figura 12 – Dispositivo para ensaio de flexão em três pontos com amostra de cimento resinoso em posição.

4.6.2 Dureza

Os valores de dureza Knoop foram mensurados utilizando microdurômetro (Buehler, Lake Bluff, EUA) (figura 13A). O equipamento foi calibrado com carga de 50g para aplicação durante 10 segundos (figura 13B).

Para isso, seis discos (10 mm $\varnothing$ x 2 mm) de cimento resinoso de cada grupo estudado nas duas condições de polimerização foram utilizados. Para o polimento da superfície, padronizou-se o uso das lixas de granulação 600, 800 e 1200 μ m por 2 minutos cada em politriz metalográfica (Arotec Indústria e Comércio, Cotia, SP, Brasil). Com a superfície polida, cinco endentações foram realizadas na área central de cada amostra sendo equidistantes 0,5mm entre elas.

Figura 13 – A) Microdurômetro (Buehler, Lake Bluff, EUA). B) Endentador Knoop sendo aplicado sobre a amostra de cimento resinoso.

A mensuração de cada endentação foi realizada imediatamente após a realização da mesma. Por meio da medida do comprimento de impressão do maior losango em aumento de 50 $\times$ (figura 14) foram convertidas em número de dureza (PASSOS et al, 2015) pelo programa do microdurômetro (Buehler Omnimet, Düsseldorf, Alemanha).

Figura 14 – Mensuração da medida do comprimento da impressão (em mm) ao longo do maior eixo do losango obtido por endentação Knoop.

4.6.3 Resistência de união ao cisalhamento

Foram confeccionados 40 discos de Y-TZP IPS e.max Zircad (Sirona Dental GmbH, Bensheim, Alemanha) nas dimensões de 12mm de diâmetro e 2,4 mm de espessura a partir de blocos pré-sinterizados (figura 15A). As amostras foram sinterizadas de acordo com a recomendação do fabricante com ciclo de 7 horas e 52 minutos (12°C/minuto até 1500°C; 120 minutos em 1500°C; taxa de resfriamento de 12°C/minuto e 1 hora e 27 minutos de tempo de espera). Em seguida foram limpos por meio da imersão em água destilada e posteriormente em etanol 92,8% em cuba de ultrassom por 10 minutos. Foram incluídos em tubo de PVC e resina acrílica (figura 15B) e a superfície da zircônia jateada com óxido de alumínio 50 μ m a uma distância de 15 cm (REKOW; THOMPSON, 2007) (figura 15C).

Figura 15 – A) Bloco pré-sinterizado de zircônia usinado em formato cilíndrico e acoplado em máquina de corte. B) Disco sinterizado de zircônia incluído em PVC e resina acrílica, C) Jateamento da superfície da Y-TZP com óxido de alumínio.

Sob a superfície jateada de zircônia, foi inserido o cimento resinoso por meio de uma matriz bipartida de politetrafluoretileno para padronização das dimensões e da área de contato (3 mm $\varnothing$ $\times$ 2 mm) (figura 16), totalizando 8 grupos com 10 amostras cada (n=10).

Para determinar a resistência de união ao cisalhamento foi utilizada máquina universal de ensaios Instron (Instron Brasil, Barueri, Brasil) e um dispositivo de ensaio mecânico (figura 17) acoplado a ela em velocidade constante de 0,5 mm/minuto até a fratura. O dispositivo utilizado tem o objetivo de minimizar forças de flexão durante o ensaio (RAMOS et al, 2014) por meio de uma fita metálica de 3mm

que envolveu toda a amostra de cimento resinoso sendo suportada por um contra-apoio visando manter o espécime fixo durante todo o ensaio de cisalhamento.

Figura 16 – A) Dispositivo para padronização da confecção de amostras de cimento resinoso. B) Matriz bipartida. C) Amostra finalizada.

Figura 17 – A) Desenho ilustrativo do dispositivo para ensaio de cisalhamento (RAMOS et al, 2014). B) Amostra de cimento resinoso acoplado no dispositivo no momento do teste.

4.6.4 Análise estatística - propriedades mecânicas

Todos os dados encontrados resultantes de cada ensaio de propriedades mecânicas foram submetidos à verificação de normalidade da distribuição amostral

(Kolmogorov-Smirnov). Constatando-se a aderência dos mesmos à curva normal, os dados foram submetidos à Análise de Variância a dois critérios.

Os dados de resistência flexural, módulo de elasticidade e dureza foram submetidos ao teste de comparações múltiplas de Tukey com nível de significância de 5%. Os dados de resistências de união ao cisalhamento foram submetidos ao teste de Fischer com nível de significância de 5%. O programa estatístico utilizado foi Statistica (StatSoftInc, Tulsa, OK, EUA).

4.7 VIABILIDADE CELULAR INDIRETA

4.7.1 Preparo das amostras de cimento resinoso

Dois discos (10 mm $\varnothing$ x 2 mm) de cimento resinoso foram preparados para cada concentração de nanotubos estudada. Após pesagem dos nanotubos e manipulação do cimento (como descrito no tópico 4.3), as amostras foram confeccionadas por meio de matriz bipartida de politetrafluoretileno (figura 18). Apenas a condição de polimerização dual foi utilizada para a análise da viabilidade celular indireta. Após a polimerização, as amostras foram esterilizadas em autoclave individualmente.

Figura 18 – A) Matriz bipartida com cimento resinoso. B) Matriz bipartida aberta e amostra de cimento resinoso polimerizada.

4.7.2 Cultura de células

Para o cultivo celular, foram utilizados fibroblastos de camundongo da linhagem NIH3T3 P13 (ATCC®; Manassas, EUA). As células foram cultivadas em meio DMEM-Eagle modificado por Dulbecco (Sigma Aldrich®; St. Louis, EUA), suplementado com 1% de antibiótico (Penicilina/Estreptomicina - Gibco®; Waltham, EUA) e 10% SFB (Soro Fetal Bovino; Gibco®), permanecendo incubadas em estufa à 37°C contendo 5% de CO₂. Após atingirem o estágio de subconfluência, fez-se o subcultivo utilizando-se a enzima tripsina, responsável por dissociar as células do frasco de cultura (0,25% tripsina, 1mM EDTA; *Sigma-Aldrich*®) (figura 19), após 5 minutos em estufa à 37°C com 5% de gás carbônico (CO₂), a tripsina foi inativada com meio de cultura DMEM com 10% SFB.

Figura 19 – Aplicação de tripsina em frasco de cultura para dissociação das células aderidas.

As células foram transferidas para um tubo falcon de 50 ml (Corning®; Nova Iorque, EUA) e centrifugadas a 1.200 rpm por 5 minutos a 20°C. Após a centrifugação,

o sobrenadante foi descartado e as células foram ressuspensas em um novo meio DMEM com 10% SFB. Após isso, fez-se a contagem celular por meio do protocolo do azul de tripan em microscópio ótico (Olympus, Japão) (figura 20). Este corante é responsável por corar as células inviáveis uma vez que penetra nas células mortas, pois suas membranas não podem mais excluí-lo. Posteriormente, as células foram plaqueadas em microplacas de 96 poços (TPP®; Trasadingen, Suíça) para o ensaio colorimétrico.

Figura 20 – Contagem das células em microscópio ótico pelo método de azul de tripan.

4.7.3 Preparo dos grupos experimentais

As amostras de cimento resinoso foram colocadas em contato com o meio de cultura, seguindo as recomendações da ISO 10993-5 (2009) ($1\text{cm}^2/\text{mL}$). Para isso, a área total dos discos foi calculada ($28,26\text{ cm}^2$) para avaliar a quantidade do meio condicionado ($28,26\text{ ml}$) (figura 21). As amostras permaneceram em estufa à 37°C ,

por 24h. Após esse período foi realizada a medida do pH do meio em que os discos ficaram imersos.

Figura 21 – A) Tubo falcon de 50 ml com amostras de cimento do grupo DC e D03 em meio de cultura. B) Tubo falcon de 50 ml com amostras de cimento do grupo D06 e D09 em meio de cultura.

Além dos grupos experimentais, grupos controles foram utilizados, sendo o grupo controle positivo composto de meio DMEM adicionado de 10% SFB e controle negativo composto de meio DMEM adicionado de 1% Fenol. Todos os grupos foram realizados em octuplicatas.

4.7.4 Plaqueamento celular

Para os ensaios de viabilidade foram plaqueadas 2×10^3 células/poço em placas de 96 poços (TPP®) (figura 22). Após o período de adesão por 24h, o meio de cultivo foi substituído por DMEM 10% SFB condicionado com as amostras do cimento. Para cada placa, foi analisado um tempo experimental de 24, 48 e 72 horas após a adição do meio condicionado.

Após cada período experimental, o meio de cultura foi removido, as células foram lavadas com solução tampão fosfato-salino (PBS) e em seguida foi realizado o ensaio de redução do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5- difeniltetrazólio).

Figura 22 – Layout do experimento realizado em placa de 96 poços.

4.7.5 Redução do MTT

A análise da atividade mitocondrial das células foi realizada pelo método da redução do MTT (MOSSMAN, 1983). O MTT, um sal solúvel em água de coloração amarelada, é reduzido pela atividade da enzima desidrogenase em formazan, insolúvel e de cor púrpura. Esse teste quantifica a conversão do MTT uma vez que o formazan, é solubilizado em células vivas, então, sua concentração pode ser determinada pela densidade óptica em espectrofotômetro.

Em cada período experimental (24, 48 e 72 horas) as células foram lavadas com PBS, e em seguida incubadas numa solução de 0,5 mg/ml (MTT/DMEM) (figura 23A), essa solução foi preparada no momento do seu uso e foi filtrada em filtro *Millipore* (0,22 μ m) antes de ser adicionado nas placas.

Após esse procedimento, as placas permaneceram em estufa por 4h a 37°C e 5% de CO₂ e em seguida a solução foi removida, o pigmento insolúvel reduzido intracelularmente foi extraído em DMSO (dimetilsulfóxido) e deixado em temperatura

ambiente por 30 minutos (figura 23B). Posteriormente, a absorbância foi mensurada em comprimento de onda de 562 nm (Leitora Synergy H1 monochromator-based, Biotek, Winooski, EUA) (figura 23C).

Figura 23 – A) Adição de MTT nos micropoços. B) Adição de DMSO para leitura das absorbâncias. C) Aparelho de Espectrofotometria para mensuração da absorbância.

4.7.6 Análise estatística – viabilidade celular indireta

Os valores de absorbância encontrados para cada grupo foram submetidos aos testes de Análise de Variância a dois critérios seguido de comparações múltiplas de Tukey com nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 GRAU DE CONVERSÃO

A análise de variância de medidas repetidas dos valores médios de grau de conversão evidenciou interação entre os fatores estudados. Os valores médios, seus respectivos desvios padrão e a comparação entre grupos (teste pos-hoc de Tukey, $p < 0,05$) estão discriminados na tabela 7 e representados no gráfico 1. A adição de nt-TiO₂, independente da concentração, aumentou os valores de grau de conversão do cimento resinoso para a condição autopolimerizável e dual em todos os tempos estudados.

Tabela 7 – Valores das médias e respectivos desvios padrão do grau de conversão (%). Letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados ($p < 0,05$).

Grupos	Tempo				
	3min	6min	9 min	12 min	15 min
AC	3,10 ^a ± 0,15	7,70 ^b ± 0,312	14,62 ^c ± 0,20	25,89 ^{e,f} ± 0,64	28,38 ^{g,h} ± 0,45
A03	26,76 ^{f,g} ± 0,29	34,63 ^{i,k} ± 0,38	41,03 ^{n,o,p} ± 0,18	45,68 ^{s,t} ± 0,24	45,76 ^{s,t} ± 0,25
A06	24,36 ^d ± 0,20	30,75 ⁱ ± 0,26	35,40 ^k ± 0,51	39,68 ^{m,n,o} ± 0,48	40,51 ^{n,o} ± 0,33
A09	25,62 ^{e,f} ± 0,30	40,46 ^{n,o,p} ± 0,21	42,15 ^{q,r} ± 0,58	45,47 ^{s,t} ± 0,16	46,51 ^{s,t} ± 0,17
DC	3,09 ^a ± 0,54	7,94 ^b ± 0,15	28,51 ^{g,h} ± 0,96	37,39 ⁱ ± 0,49	41,22 ^{o,p} ± 0,68
D03	26,11 ^f ± 0,12	33,97 ^{i,j} ± 0,36	46,30 ^{s,t} ± 0,44	47,20 ^{t,u} ± 0,17	48,09 ^u ± 0,12
D06	24,13 ^{d,e} ± 0,18	29,76 ^{h,i} ± 0,45	38,36 ^{l,m} ± 0,54	39,70 ^{m,n,o} ± 0,43	45,77 ^{s,t} ± 0,29
D09	26,05 ^f ± 0,22	39,89 ^{m,n} ± 0,16	44,12 ^{p,q} ± 0,38	44,58 ^{r,s} ± 0,35	45,51 ^{s,t} ± 0,18

Nos tempos de 3 e 6 minutos a condição de polimerização não teve influência nos resultados uma vez que a luz foi aplicada apenas em 9 minutos para a condição dual. A análise do grau de conversão no tempo de 3 minutos mostrou que a adição de 0,3% (A03=26,76%; D03=26,11%) e 0,9% (A09=25,62%; D09=26,05%) de nt-TiO₂ no cimento resinoso para as duas condições de polimerização apresentaram

os maiores valores, similares ao grupo AC no tempo de 12 minutos (AC=25,89%). No tempo de 6 minutos, a adição de 0,9% de nt-TiO₂ (A09=40,46%; D09=39,89%) apresentou os maiores resultados quando comparado aos demais grupos.

Nos tempos de 9, 12 e 15 minutos, a aplicação da luz na condição dual exerceu influência nos resultados obtido. O gráfico 1 ilustra no tempo de 9 minutos, o aumento dos valores do grau de conversão em todas as concentrações estudadas quando comparado à condição autopolimerizável.

Gráfico 1 – Grau de conversão dos grupos estudados nos diferentes tempos. Sinal ♦ representa varredura em 9 minutos após a aplicação da luz pelo fotopolimerizador.

O grupo controle DC apresentou um aumento do grau de conversão significativo no tempo de 9 minutos (28,51%) em relação ao grupo AC (14,62%) que não recebeu luz. A diferença significativa permaneceu nos demais tempos para os grupos controle estudados.

Independente da concentração de nt-TiO₂ adicionada, os grupos A03, A06 e A09 apresentaram valores maiores que o grupo DC nos tempos de 9 e 12 minutos. No tempo de 15 minutos, apenas o grupo A06 foi semelhante ao grupo DC.

Em 15 minutos, o melhor resultado encontrado foi do grupo D03 (48,09%), com diferença estatística para os grupos A09 (46,51%), A03 (45,76%), D06 (45,77%) e D09 (45,51%) que não apresentam diferença entre si. O grupo AC apresentou o menor valor de grau de conversão.

5.2 SORÇÃO E SOLUBILIDADE

A análise de variância dos valores médios de sorção e de solubilidade não evidenciou interação entre os fatores estudados. Portanto, não houve diferença significativa entre os grupos independentemente da concentração de nanotubos inseridos e da condição de polimerização. As médias e desvios padrão dos valores obtidos para sorção e solubilidade de água pode ser observado nos gráficos 2 e 3.

Após a análise da correlação de Pearson observou-se que houve uma correlação de 80% ($r > 0,800$) entre sorção e solubilidade em todos grupos estudados independentemente da condição de polimerização. O gráfico 4 representa a relação direta entre sorção e solubilidade de cada grupo para a condição autopolimerizável e o gráfico 5 para a condição dual. Quanto maior a sorção, maior a solubilidade para ambas as condições.

Gráfico 2 – Valores médios do grau de sorção ($\mu\text{g}/\text{mm}^3$) e desvios padrão. Letras iguais representam similaridade estatística significativa entre os grupos estudados ($p > 0,05$).

Gráfico 3 – Valores médios do grau de solubilidade ($\mu\text{g}/\text{mm}^3$). Letras iguais representam similaridade estatística significante entre os grupos estudados ($p > 0,05$).

Gráfico 4 – Correlação entre sorção e solubilidade $\mu\text{g}/\text{mm}^3$ para a condição autopolimerizável.

Gráfico 5 – Correlação entre sorção e solubilidade $\mu\text{g}/\text{mm}^3$ para a condição dual.

5.3 RESISTÊNCIA FLEXURAL E MÓDULO DE ELASTICIDADE

O resultado da análise de variância dos valores médios de resistência flexural e módulo de elasticidade evidenciou interação entre os dois fatores estudados. Os valores médios, seus respectivos desvios padrão e a comparação entre grupos (teste pos-hoc de Tukey, $p < 0,05$) estão discriminados na tabela 8.

Tabela 8 – Valores das médias e respectivos desvios padrão (DV) da resistência flexural (σ_f) e do módulo de elasticidade (E) para cada grupo. Letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados ($p < 0,05$).

	Grupos							
	AC	A03	A06	A09	DC	D03	D06	D09
σ_f (MPa)	35,40 ^c	59,40 ^{a,b}	41,68 ^{c,d}	55,22 ^{a,b,c}	70,72 ^b	57,61 ^{a,b}	44,71 ^{a,c,d}	58,43 ^{a,b}
DV	10,41	12,17	16,03	10,19	12,18	11,59	7,19	8,21
E (GPa)	1,01 ^c	1,27 ^{b,c}	1,00 ^c	1,71 ^{a,b}	2,22 ^a	1,76 ^{a,b}	1,67 ^{a,b}	2,27 ^a
DV	0,31	0,43	0,34	0,52	0,56	0,22	0,52	0,37

A adição de nt-TiO₂ nas concentrações de 0,3% (A03) e 0,9% (A09) aumentou a resistência flexural do cimento na condição autopolimerizável, com valor similar ao grupo controle na condição dual (DC). Já para a condição dual, a adição de nanotubos não aumentou o valor da resistência flexural e a adição de 0,6% (D06) diminuiu o valor em relação ao controle (DC). O valor médio de módulo de elasticidade aumentou com a adição de 0,9% na condição autopolimerizável, similar a todos os grupos da condição dual, em que adição de nt-TiO₂ não influenciou os resultados.

5.4 DUREZA

A análise de variância dos valores médios de dureza evidenciou interação apenas para o fator tratamento com diferentes concentrações de nt-TiO₂. A condição de polimerização não exerceu influência nos resultados. Os valores médios, seus respectivos desvios padrão e a comparação entre grupos (teste pos-hoc de Tukey, $p < 0,05$) estão demonstrados no gráfico 6.

Gráfico 6 – Valores médios de dureza (MPa) de cada grupo. Letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados ($p < 0,05$).

A adição de 0,6% (A06 e D06) e 0,9% (A09 e D09) de nanotubos ao cimento aumentou os valores de dureza quando comparado aos grupos controle (AC e DC) porém sem diferença entre eles. A adição de 0,3% (A03 e D03) de nanotubos resultou em dados de dureza similar aos grupos controle e aos grupos com 0,6 e 0,9%.

5.5 RESISTÊNCIA DE UNIÃO AO CISALHAMENTO

A análise de variância dos valores médios de resistência ao cisalhamento evidenciou interação apenas do fator tratamento com diferentes concentrações de nt-TiO_2 . A condição de polimerização não exerceu influência nos resultados. Os valores médios, seus respectivos desvios padrão e a comparação entre grupos (teste pos-hoc de Fischer, $p < 0,05$) de cada grupo estudado estão discriminados na tabela 9.

Tabela 9 – Valores das médias e respectivos desvios padrão (DV) da resistência ao cisalhamento (σ) de cada grupo. Letras diferentes representam diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados ($p < 0,05$).

	Grupos							
	AC	A03	A06	A09	DC	D03	D06	D09
σ (MPa)	4,73 ^{a,b}	5,73 ^b	4,51 ^a	4,61 ^a	6,17 ^{a,b}	5,74 ^b	4,82 ^a	4,75 ^a
DV	$\pm 1,43$	$\pm 1,71$	$\pm 1,87$	$\pm 0,85$	$\pm 0,87$	$\pm 1,70$	$\pm 1,06$	$\pm 1,43$

A adição de nanotubos na concentração de 0,3% (A03 e D03) aumentou os valores de resistência de união quando comparado aos grupos adicionados com 0,6% (D06 e D06) e 0,9% (A09 e D09) porém sem diferença para os grupos controle (AC e DC).

A análise do tipo de falha evidenciou predominância de falha adesiva em todos os grupos estudados. Os grupos A03, A06, DC e D03 não apresentaram falhas coesivas do cimento. No gráfico 7 é possível observar a distribuição da quantidade de falhas (em %) para cada grupo.

Gráfico 7 – Distribuição (em %) dos tipos de falhas (adesiva, coesiva e mista) para cada grupo estudado.

5.6. VIABILIDADE CELULAR INDIRETA

A tabela 10 apresenta os valores de pH para os grupos estudados. A adição de nt-TiO₂ nas diferentes concentrações não alterou os valores de pH do cimento, variando em escala 7 como nos grupos controle (CP, CN e DC).

Tabela 10 – Grupos controle e experimentais e seus respectivos valores de pH.

	Grupos					
	CP	CN	DC	D03	D06	D09
pH	7,20	7,97	7,60	7,56	7,82	7,69

O resultado do ensaio colorimétrico MTT está demonstrado no gráfico 8. No período de 24h, os grupos D03, D06 e D09 obtiveram resultado similar ao grupo

CP. Já o grupo DC apresentou valores de absorbância inferiores ao CP, usado como parâmetro de comparação, com diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

No período de 48h, todos os grupos experimentais não demonstraram diferença significativa em comparação ao grupo CP, com exceção do CN que apresentou diferença.

No último período, 72h, houve um decréscimo na viabilidade celular, entretanto o perfil foi semelhante ao período de 48 horas em que todos os grupos obtiveram resultados similares ao CP.

Gráfico 8 – Análise da redução do MTT nos períodos de 24, 48 e 72 horas.

Ao observar as imagens capturadas por microscopia ótica ao final de cada período (Figura 24), verificou-se que em 72 horas, os poços encontravam-se em confluência. Devido à falta de espaço, ocorreu morte celular, confirmando a diminuição da viabilidade nesse período.

Figura 24 – Imagens de microscopia ótica nos períodos de 24, 48 e 72 horas (colunas) para todos os grupos estudados CN, CP, DC, D03, D06 e D09 (linhas).

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

A incorporação de nanoestruturas de TiO_2 aos polímeros odontológicos tem apresentado resultados promissores (XIA et al, 2008, ELSAKA; HAMOUDA; SWAIN, 2011, SUN et al, 2011, DAFAR et al, 2016). De forma geral, também foi encontrado resultados favoráveis nesse estudo após incorporação de nt- TiO_2 ao cimento resinoso autoadesivo influenciando seu comportamento físico-químico, mecânico e biológico. Não há evidência na literatura até o momento de adição de nanoestruturas em cimentos resinosos e, portanto, esse estudo de caracterização das propriedades apresenta nova abordagem para o desenvolvimento de um material com propriedades melhoradas.

O primeiro objetivo desse estudo foi avaliar a influência da adição de nt- TiO_2 no grau de conversão até 15 minutos após a manipulação do cimento resinoso autoadesivo, em duas condições de polimerização (autopolimerizável e dual) uma vez que essa propriedade tem relação direta com o comportamento e longevidade da restauração indireta (PUPPIN-RONTANI et al, 2012). Os resultados mostraram que independente da concentração adicionada (0,3% 0,6% e 0,9% em peso), o grau de conversão foi maior em todos os tempos estudados (3, 6, 9, 12 e 15 minutos) quando comparado ao controle para as duas condições de polimerização.

A variável condição de polimerização foi escolhida já que os cimentos resinosos autoadesivos apresentam polimerização dual e em muitas situações clínicas dependem de uma ou das duas condições de polimerização. O protocolo de polimerização dual realizada nesse estudo foi aproximado ao realizado por Soares et al (2016) em que 6 minutos após a manipulação foi realizada a aplicação da luz sem prejuízo de suas propriedades mecânicas (FARIA-E-SILVA et al, 2011, SOARES et al, 2016). A fotopolimerização imediata após a manipulação do cimento poderia afetar negativamente a reação química, por causa da rápida formação de ligações cruzadas pela exposição à luz levando ao aprisionamento dos ativadores e iniciadores da presa química (RUEGGERBERG; CAUGHMAN, 1993). Além disso, a condição dual proposta neste estudo simula a utilização do cimento resinoso autoadesivo em restaurações indiretas com infraestruturas que não permitem a passagem de luz, como Y-TZP, em

que o cimento das margens da restauração recebe luz do fotopolimerizador após alguns minutos da cimentação.

O cimento sem aditivos, não atingiu o mesmo valor de conversão de seus monômeros na condição autopolimerizável (AC) quando comparado a condição em que foi submetido à luz na condição dual (DC), o que está de acordo com outros estudos (AGUIAR et al, 2010, DI FRANCESCANTONIO et al, 2013, AGUIAR et al, 2015). Somente a reação química de cimentos resinosos de dupla polimerização parece, portanto, não ser suficiente para alcançar níveis razoáveis de conversão de ligações duplas $C = C$ durante a formação de polímeros após 15 minutos da mistura. Segundo Tarle et al (2006) e Tezvergil-Mutluay et al (2007) qualquer material resinoso utilizado para cimentação de dupla polimerização é dependente da ação da luz visível com irradiação adequada para se obter um grau de conversão ótimo. O sistema fotoiniciador permite reação mais rápida e de alta conversão quando os materiais são expostos a fotopolimerização (AGUIAR et al, 2015) e isso pode ser observado no gráfico 1 em que a curva de polimerização em 9 minutos aumentou visivelmente com a aplicação da luz mesmo nos grupos aditivados com $nt-TiO_2$ que já apresentavam grau de conversão maior. Assim a preocupação com a indicação de uso desse cimento para regiões com passagem de luz insuficiente que dependem exclusivamente da polimerização química, como nos casos de restaurações com cerâmica policristalina e em cimentação de pinos, é bastante relevante (VROCHARI et al, 2009).

A adição de 0,3 e 0,9% de $nt-TiO_2$ na condição autopolimerizável elevou os níveis de grau de conversão a um patamar superior ao da condição dual sem aditivo e a adição de 0,6% ao mesmo patamar após 15 minutos, o que justificaria seu uso em situações que dependem exclusivamente da polimerização química ou que apresentam áreas de cimento não atingidas pela luz do fotopolimerizador. Os resultados encontrados nesse estudo não seguiram a relação direta em que quanto maior a concentração de $nt-TiO_2$ inserido, maior o grau de conversão. Esse resultado não linear, pode ser justificado pelo fato de que a adição de 0,6% promoveria uma aglomeração inconstante de nanotubos (SUN et al, 2011) resultando em ligações presas a outras já polimerizadas e impedindo novas ligações (PEUTZFELDT, 1997). Quando se adicionou 0,9%, a reação de conversão foi tão rápida que essa

aglomeração de nanotubos pode ter sido menor ou não ter afetado a ligação dos monômeros.

Na condição dual, o cimento sem aditivo (DC – 41,22%) apresentou valores similares às médias reportadas na literatura (25,4 – 55,9%) para a mesma classe de cimento. A variação de resultados encontrados na literatura pode ser devido ao fato de que as metodologias empregadas não seguem o mesmo protocolo de fotoativação e o grau de conversão numa reação de fotopolimerização depende da intensidade da luz e tempo de exposição fornecida pelo fotopolimerizador (RUEGGEBERG; CAUGHMAN; CURTIS, 1994). Mesmo já apresentando valores aceitáveis de grau de conversão na condição dual, a adição de 0,3% de nt-TiO₂ elevou os valores em 16%. Provavelmente a inserção dessa concentração permitiu que o cimento ficasse mais reativo a novas ligações entre os monômeros permanecendo em equilíbrio com a rede polimérica que estava se formando. O aumento da concentração (0,6 e 0,9%) de nt-TiO₂ no entanto apresentou um aumento médio de apenas 10%, provavelmente devido ao aumento mais rápido da viscosidade gerada pela conversão dos monômeros.

O aumento evidente do grau de conversão dos cimentos aditivados demonstra o potencial indutor dos nt-TiO₂, agindo como coiniciador da reação e colaborando para o aumento de pontos de ligações cruzadas fortes na rede polimérica formada (SUN et al, 2011). Isso porque em escala nanométrica, em especial <50 nm, ocorre o efeito de confinamento dos pares de elétrons que acarreta em um aumento da energia entre a banda de valência e a banda de condução (*bandgap*) do material (RODRIGUES, J.A.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, 2007). Essa energia é expressa quimicamente via radicais livres (HO•) (SUN et al, 2011) que provavelmente foram sítios adicionais de ligações entre os monômeros presentes.

A análise do grau de conversão não se limita apenas em quantificar a conversão dos monômeros em polímero. Isso porque existe relação desse resultado com as propriedades físicas, mecânicas e biológicas dos cimentos resinosos e em seu desempenho a longo prazo (FERRACANE; GREENER, 1984, BRAGA; CESAR; GONZAGA, 2002, ARRAIS; GIANNINI; RUEGGEBERG, 2009, ERGUN; EGILMEZ; YILMAZ, 2011). Porém, nesse estudo, mesmo com o aumento do grau de conversão

para todos os grupos experimentais, não houve diferença significativa nos resultados de sorção e solubilidade.

A adição de nt-TiO_2 e a condição de polimerização não exerceram influência sobre a sorção e solubilidade do cimento resinoso autoadesivo. De acordo com a norma ISO 4049 (2009), o valor considerado clinicamente aceitável de sorção de água para materiais poliméricos é limitado em 40 mg/mm^3 e para solubilidade valor inferior a $7,5 \text{ g/mm}^3$. Os resultados encontrados nesse estudo de sorção ($36,19 - 38,47 \text{ g/mm}^3$) estão de acordo com o recomendado pela ISO, porém o de solubilidade ($7,66 - 8,14 \text{ g/mm}^3$) apresentaram valores acima do estipulado como ideal. Fato que pode ser elucidado uma vez que materiais resinosos que contêm monômeros funcionais ácidos, como grupos carboxílicos ou fosfato, tornam-se significativamente mais hidrófilos dos que contêm apenas monômeros convencionais como TEGDMA e Bis-GMA (MALACARNE et al, 2006, LIU et al, 2011) e portanto mais susceptíveis à sorção e solubilidade (PETROPOULOU et al, 2015). Além disso, a quantidade de partículas inorgânicas (TOLEDANO et al, 2003), bem como a natureza das ligações entre as partículas e a matriz orgânica são importantes (MESE; BURROW; TYAS, 2008) já que pode ocorrer difusão de água entre as partículas (KALACHANDRA, 1989).

A análise da sorção e solubilidade de cimentos resinosos é importante uma vez que na cavidade oral o cimento resinoso ao redor das margens da restauração está constantemente em contato com os fluidos orais e sua dissolução é um processo contínuo (PETROPOULOU et al, 2015) inicialmente mais rápida, diminuindo com o tempo (TANAKA et al, 1991). Alguns monômeros residuais não polimerizados são lixiviados para cavidade oral, mas a maioria deles permanecem presos no cimento já polimerizado (PETROPOULOU et al, 2015). Os que são liberados ao meio podem provocar reações biológicas adversas penetrando nos túbulos dentinários e polpa (YIU et al, 2006). Os que ficam presos no cimento reduzem a longevidade clínica do material por sofrerem oxidação e degradação hidrolítica, evidenciado pela descoloração das margens da cimentação (TANAKA et al, 1991). Além disso, podem ocorrer defeitos marginais, resultado em infiltração, desadaptação da restauração indireta ou lesões cariosas (MESE; BURROW; TYAS, 2008). Todos esses fatores influenciam o sucesso a longo prazo das restaurações e a taxa de sobrevivência (JONGSMA; KLEVERLAAN; FEILZER, 2012).

O estudo das propriedades mecânicas dos cimentos resinosos oferece informações importantes sobre seu comportamento (AGUIAR et al, 2015) e é um elemento-chave na estratégia da investigação de materiais experimentais. Tanto a resistência flexural quanto o módulo de elasticidade apresentam a capacidade do cimento para resistir às forças e, assim, absorver energia dentro da fase elástica (DUYMUS; YANIKOGLU; ALKURT, 2013).

Os valores de resistência flexural encontrados nesse estudo mostraram que a presença de nt-TiO₂ influenciou os resultados. A inserção de 0,3 e 0,9% de nt-TiO₂ aumentaram significativamente os valores de resistência flexural na condição autopolimerizável sendo similares ao valor médio do cimento na condição dual (DC). A relação linear entre a maior quantidade de nanotubos inserida e o aumento da resistência não foi observado. Esse fato pode ser associado a maior conversão dos monômeros para as concentrações de 0,3 e 0,9% na mesma condição de polimerização, uma vez que são propriedades que apresentam relação direta (FERRACANE; GREENER, 1986, GONCALVES et al, 2015). Para a condição dual, a inserção de 0,6% de nt-TiO₂ diminuiu o valor de resistência flexural em relação ao controle (DC). Como já observado para o grau de conversão, a inserção dessa concentração pode ter gerado a aglomeração das partículas nanométricas (*nanocluster*) diminuindo a resistência do material. A presença de defeitos, poros ou inclusões exerce um efeito negativo sobre a resistência de um material por atuarem como concentradores de tensões (CALLISTER JR; RETHWISCH, 2015).

O módulo de elasticidade está relacionado com a energia necessária para deformar ângulos e distâncias de ligações entre os átomos da cadeia polimérica (CANEVAROLO JUNIOR, 2006). Portanto, quanto mais rígido o polímero, maior o valor de seu módulo (ANUSAVICE, 2005) e mais resistente à deformação por tensões residuais e advindas de forças oclusais. O estudo de Aguiar et al (2015) mostra que o módulo de elasticidade dos cimentos autoadesivos quando autopolimerizado (1,9 – 6,8 GPa) é numericamente menor quando utilizado na forma dual (4,8 – 7,9 GPa). O mesmo resultado foi encontrado para o grupo DC quando comparado ao grupo AC. Isso pode acontecer pelo fato de que a caracterização do desenvolvimento do módulo de elasticidade é baseada na mudança de um cimento inicialmente viscoso para sólido (SOARES et al, 2016). A adição de nt-TiO₂ não alterou o módulo de elasticidade para o grupo dual mas a adição de 0,9% no grupo autopolimerizável (A09 – 1,71 GPa)

resultou em valores similares ao grupos duais. Esse aumento pode ser explicado pelo fato de que o módulo de elasticidade do material pode ser alterado dependendo da composição inorgânica (KIM; ONG; OKUNO, 2002, AGUIAR et al, 2012). Tem sido sugerido que o valor de módulo de elasticidade desejável para um agente de cimentação deve situar-se entre o da restauração indireta e o da estrutura dentária mineralizada (12 – 14 GPa para dentina e 46 – 48 GPa para esmalte, segundo Anusavice (2005), o que contribuiria para redução de concentrações de tensões na interface (FURUICHI et al, 2016) e por consequência redução de fendas marginais (LI; WHITE, 1999).

Os resultados de dureza mostraram que a adição de 0,6% e 0,9% independente da condição de polimerização foram significativamente maiores. Esse resultado difere de estudos anteriores (SUN et al, 2011, ARRUDA, 2015) que mostram que a partir de certa concentração, o aumento da % de nt-TiO₂ inserido leva a um declínio dos valores de dureza em resina composta. Isso não pode ser observado nesse estudo uma vez que concentrações maiores precisariam ser consideradas para análise. Além disso, discrepâncias entre metodologias empregadas e do próprio material são observadas. O endentador Knoop é o mais indicado para análise de dureza de materiais poliméricos (ANUSAVICE, 2005) e o local de aplicação do endentador pode interferir nos resultados encontrados. Isso porque na região central da amostra os radicais livres estão tridimensionalmente mais expostos a reagir quando comparados aos localizados nas extremidades (HOFMANN et al, 2001).

A relação entre dureza do material e o grau de conversão também pode fundamentar o fato de que a adição de nt-TiO₂ alterou os valores de dureza (GONCALVES et al, 2015), mesmo que não proporcionalmente. A dureza é uma propriedade de resistência a deformação plástica localizada (CALLISTER JR; RETHWISCH, 2015) que depende da conversão de monômeros e da rede polimérica formada, mas também da ligação entre os átomos (DARVELL, 2012).

De forma geral os resultados positivos de resistência flexural, módulo de elasticidade e dureza dos cimentos aditivados mostram que várias propriedades podem ser beneficiadas pela atividade catalítica dos nt-TiO₂, que fazem grande diferença em termos do número de ligações cruzadas e mobilidade da cadeia do polímero (SUN et al, 2011). Além disso, a grande área superficial dos nanotubos, de estrutura oca, permite um intertravamento com a matriz resinosa nas superfícies

internas e externas dos tubos, atuando como reforço na estrutura e resultando em um material propriedades mecânicas melhoradas (DAFAR et al, 2016).

As cerâmicas à base de zircônia tem sido muito utilizada nos últimos anos mesmo se apresentando como um material quimicamente e biologicamente inerte, dificultando a obtenção de união com o cimento resinoso (MAGNE; PARANHOS; BURNETT, 2010). A utilização de ferramentas que aumentem a retenção entre esses dois materiais como alteração da rugosidade superficial com jateamento abrasivo, aplicação de sílica e spray de plasma, aplicação de primer ou uso de instrumentos rotatórios tem sido recomendada (KIRMALI; AKIN; OZDEMIR, 2013). Para todos os grupos estudados convencionou-se a utilização da aplicação do jateamento com partículas de óxido de alumínio (Al_2O_3) 50 μm pois tem se mostrado uma opção viável e com resultados positivos de resistência de união com cimentos resinosos (BLATZ et al, 2007, BLATZ et al, 2010).

Os resultados desse estudo mostraram que a adição de 0,3% independente da condição de polimerização melhorou a resistência de união com Y-TZP quando comparado às demais concentrações porém sem diferença para o grupo controle. Porém, os valores encontrados foram menores do que a média reportada na literatura para os mesmos materiais (14,71 – 38,8 MPa)(KIM et al, 2016), com diferenças na metodologia do teste utilizada e com diferentes tratamentos de superfície. Comparando os resultados com estudo em condição similar à executada, os resultados foram similares (5,52 – 6,53 MPa)(MEDINA-VALDIVIA, 2011). A escolha do teste de cisalhamento com fita metálica foi baseada em estudos prévios (RAMOS et al, 2014) em que se utilizou um dispositivo desenvolvido para minimizar as forças de tensão e compressão na interface por meio de um contra apoio. O resultado da análise de falhas ratifica esse fato uma vez que em todos os grupos a maioria das falhas foi adesiva, ou seja, na área de união cimento/Y-TZP.

Os melhores resultados da adição de 0,3% de nt- TiO_2 , quando se analisa a superfície de contato do cimento com a Y-TZP, pode ter relação com a distribuição mais homogênea dos nanotubos nessa concentração, permitindo que a superfície do cimento apresentasse maior reatividade com os óxidos metálicos da periferia dos grãos de Y-TZP. Essa interação entre as duas superfícies poderia então ocorrer assim como na ligação do grupamento éster fosfato dos monômeros bifuncionais 10-MDP que inseridos na matriz resinosa do cimento ou adesivos se ligam quimicamente aos

óxidos de alumínio (do jateamento com Al_2O_3) e de zircônio (Y-TZP) aumentando a resistência de união entre os dois materiais (KERN; WEGNER, 1998, WEGNER; KERN, 2000, WOLFART et al, 2007).

Outro fator importante a ser considerado na análise das propriedades do cimento resinoso é seu potencial para efeitos biológicos adversos. Por meio de cultura de células é possível observar informações de caráter qualitativo e quantitativo, alterações celulares ou a inibição da formação de colônias celulares (GROTH; FALCK; MIETHKE, 1995) sendo fundamental análise previamente à estudos clínicos. Neste estudo foi avaliada a viabilidade indireta de fibroblastos por meio do ensaio MTT, que são células aprovadas para teste de citotoxicidade pela ISO 10993 (2009). São o tipo celular predominante na gengiva marginal e polpa e portanto podem ser afetados pela lixiviação de componentes de materiais resinosos (AL-HIYASAT; DARMANI; MILHEM, 2005) nas margens da restauração indireta e pela penetração nos túbulos dentinários e polpa (YIU et al, 2006).

Os resultados encontrados mostraram que a incorporação de nt-TiO_2 em 24, 48 e 72 horas foram o mesmo para o grupo controle positivo, indicando que a adição não comprometeu a viabilidade celular *in vitro* nesses períodos na condição dual. O grupo DC no entanto, no período de 24 horas, apresentou diferença estatística de viabilidade celular quando comparado ao CP. Esse resultado pode ser explicado pela relação entre o tipo de polimerização utilizada e o grau de conversão obtido em relação a citotoxicidade dos cimentos resinosos (MONTEIRO et al, 2010). Segundo Morgan et al (2015) os cimentos autoadesivos com menor valor de grau de conversão, apresentaram uma diminuição significativa na sobrevivência celular quando comparados aos cimentos com maior valor de grau de conversão. O grupo DC foi o que apresentou o menor valor do grau de conversão quando comparado aos outros grupos submetidos à mesma condição de polimerização. Essa relação pode ser explicada pela liberação de monômeros não polimerizados, como UDMA e TEGMA, ocasionando interrupção do ciclo celular e apoptose (PAMEIJER; STANLEY, 1992, GEURTSSEN et al, 1998, KONG et al, 2009, URCAN et al, 2010) ou pela canforoquinona que quando não reagida e incorporada na rede polimérica, é também lixiviada ao meio causando stress oxidativo e citotoxicidade (KOSTORYZ et al, 2003). Além disso, a concentração de cada monômero presente no cimento também tem influência na citotoxicidade (VOLK et al, 2006). Outro fator importante é que os óxidos

de TiO_2 em escala nanométrica tem apresentado notáveis propriedades antimicrobianas quando incorporados em cimentos odontológicos (ELSAKA; HAMOUDA; SWAIN, 2011, POOSTI et al, 2013) uma vez que seu tamanho reduzido permite a penetração das membranas celulares alterando os processos intracelulares e assim resultando em uma maior reatividade e atividade antimicrobiana.

Em uma análise geral, a adição de nt- TiO_2 no cimento resinoso autoadesivo influenciou positivamente suas propriedades, principalmente com relevância para a condição autopolimerizável que é uma indicação de uso com certa limitação. Não houve um consenso nos resultados quanto à concentração ideal a ser incorporada para que todas as propriedades estudadas fossem aprimoradas. Porém a inserção de 0,3 e 0,9% em peso foram responsáveis pela maioria dos resultados favoráveis nesse estudo. A falta de isonomia dos resultados poderia ser amenizada pela funcionalização dos nanotubos uma vez que estruturas em escala nanométrica tendem a se aglomerar diminuindo sua dispersão no material (DAFAR et al, 2016). Além disso análises complementares são necessárias para melhor entendimento da interação nanotubos/cimento e da real relevância clínica perante os resultados encontrados afim de permitir sua viabilidade de uso no futuro.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Baseado nos resultados encontrados, conclui-se que:

- A adição de nt-TiO₂ no cimento resinoso autoadesivo exerceu influência nas propriedades de grau de conversão, resistência flexural, módulo de elasticidade, dureza e viabilidade celular indireta frente à fibroblastos caracterizando-se como aditivo promissor para essa classe de cimentos;
 - É possível aumentar consideravelmente o grau de conversão do cimento resinoso autoadesivo após 15 minutos da manipulação quando utilizado na condição autopolimerizável por meio da adição de 0,3 e 0,9% de nt-TiO₂;
 - As propriedades mecânicas do cimento resinoso autoadesivo de resistência flexural, módulo de elasticidade, dureza e resistência de união ao cisalhamento foram influenciadas pela presença dos nt-TiO₂ porém não de forma linear,
 - A viabilidade celular indireta frente à fibroblastos dos cimentos aditivados foi a mesma para o grupo controle positivo. Para essa análise, a presença de aditivos não resultou em meio tóxico às células testadas. O cimento sem aditivo em 24 horas apresentou menor viabilidade celular e a adição dos nt-TiO₂ melhorou essa condição.
-

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

Aguiar TR, de Oliveira M, Arrais CA, Ambrosano GM, Rueggeberg F, Giannini M. The effect of photopolymerization on the degree of conversion, polymerization kinetic, biaxial flexure strength, and modulus of self-adhesive resin cements. *J Prosthet Dent*. 2015;113(2):128-34.

Aguiar TR, Di Francescantonio M, Arrais CA, Ambrosano GM, Davanzo C, Giannini M. Influence of curing mode and time on degree of conversion of one conventional and two self-adhesive resin cements. *Oper Dent*. 2010;35(3):295-9.

Al-Hiyasat AS, Darmani H, Milhem MM. Cytotoxicity evaluation of dental resin composites and their flowable derivatives. *Clinical Oral Investigations*. 2005;9(1):21-5.

AlQahtani MQ, AlShaafi MM, Price RB. Effects of single-peak vs polywave light-emitting diode curing lights on the polymerization of resin cement. *J Adhes Dent*. 2013;15(6):547-51.

Alvim HH, Alecio AC, Vasconcellos WA, Furlan M, de Oliveira JE, Saad JR. Analysis of camphorquinone in composite resins as a function of shade. *Dent Mater*. 2007;23(10):1245-9.

Anusavice KJ. Phillips, materiais dentários. 11ed, editor. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda; 2005.

Arrais CA, Giannini M, Rueggeberg FA. Kinetic analysis of monomer conversion in auto- and dual-polymerizing modes of commercial resin luting cements. *J Prosthet Dent*. 2009;101(2):128-36.

Arrais CA, Rueggeberg FA, Waller JL, de Goes MF, Giannini M. Effect of curing mode on the polymerization characteristics of dual-cured resin cement systems. *J Dent*. 2008;36(6):418-26.

Arruda LB. Nanotubos óxidos aplicados a resinas compostas fotoativadas [Tese]: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2015.

Arruda LB, Santos CM, Orlandi MO, Schreiner WH, Lisboa-Filho PN. Formation and evolution of TiO₂ nanotubes in alkaline synthesis. *Ceramics Internacional*. 2015;41(2):8.

Asmussen E, Peutzfeldt A. Flexural strength and modulus of a step-cured resin composite. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2004;62(2):87-90.

Baader K, Hiller KA, Buchalla W, Schmalz G, Federlin M. Self-adhesive Luting of Partial Ceramic Crowns: Selective Enamel Etching Leads to Higher Survival after 6.5 Years In Vivo. *J Adhes Dent*. 2016;18(1):69-79.

Bandéca MC, El-Mowafy O, Saade EG, Rastelli ANS, Bagnato VS, Porto-Neto NT. Changes on degree of conversion of dual-cure luting light-cured with blue LED Laser Physics. 2009;19(5):5.

Bauer F, Sauerland V, Ernst H, Glasel HA, Naumov S, Mehnert R. Preparation of scratch- and abrasion-resistant polymeric nanocomposites by monomer grafting onto nanoparticles, 4 - Application of MALDI-TOF mass spectrometry to the characterization of surface modified nanoparticles. Macromolecular Chemistry and Physics. 2003;204(3):375-83.

Bayne SC. Dental restorations for oral rehabilitation - testing of laboratory properties versus clinical performance for clinical decision making. J Oral Rehabil. 2007;34(12):921-32.

Behr M, Rosentritt M, Wimmer J, Lang R, Kolbeck C, Burgers R, et al. Self-adhesive resin cement versus zinc phosphate luting material: a prospective clinical trial begun 2003. Dent Mater. 2009;25(5):601-4.

Belli R, Pelka M, Petschelt A, Lohbauer U. In vitro wear gap formation of self-adhesive resin cements: a CLSM evaluation. J Dent. 2009;37(12):984-93.

Blatz MB, Bergler M, Ozer F, Holst S, Phark JH, Chiche GJ. Bond strength of different veneering ceramics to zirconia and their susceptibility to thermocycling. Am J Dent. 2010;23(4):213-6.

Blatz MB, Chiche G, Holst S, Sadan A. Influence of surface treatment and simulated aging on bond strengths of luting agents to zirconia. Quintessence Int. 2007;38(9):745-53.

Bowen RL. Properties of a silica-reinforced polymer for dental restorations. J Am Dent Assoc. 1963;66:57-64.

Braga RR, Cesar PF, Gonzaga CC. Mechanical properties of resin cements with different activation modes. Journal of Oral Rehabilitation. 2002;29(3):257-62.

Brus L. Electronic Wave Functions in Semiconductor Clusters: Experiment and Theory The Journal of Physical Chemistry 1986;90(12):5.

Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. J Dent Res. 1955;34(6):849-53.

Burgess JO, Ghuman T, Cakir D. Self-adhesive resin cements. J Esthet Restor Dent. 2010;22(6):412-9.

Callister Jr WD, Rethwisch DG. Ciência e engenharia de materiais: uma introdução. 8ed, editor. Rio de Janeiro: LTC; 2015.

Camilotti V, Grullon PG, Mendonca MJ, D'Alpino PH, Gomes JC. Influence of different light curing units on the bond strength of indirect resin composite restorations. Braz Oral Res. 2008;22(2):164-9.

Canevarolo Junior SV. Ciência dos Polímeros. 2, editor. São Paulo: Artliber; 2006. 280 p.

Cantoro A, Goracci C, Papacchini F, Mazzitelli C, Fadda GM, Ferrari M. Effect of pre-cure temperature on the bonding potential of self-etch and self-adhesive resin cements. *Dent Mater*. 2008;24(5):577-83.

Carp O, Huisman CL, Reller A. Photoinduced reactivity of titanium dioxide. *Progress in Solid State Chemistry*. 2004;32(1-2):33-177.

Caughman WF, Chan DC, Rueggeberg FA. Curing potential of dual-polymerizable resin cements in simulated clinical situations. *J Prosthet Dent*. 2001;86(1):101-6.

Cavalcanti AN, Foxton RM, Watson TF, Oliveira MT, Giannini M, Marchi GM. Y-TZP ceramics: key concepts for clinical application. *Oper Dent*. 2009;34(3):344-51.

Chen MH. Update on dental nanocomposites. *J Dent Res*. 2010;89(6):549-60.

Chen X, Mao SS. Titanium dioxide nanomaterials: synthesis, properties, modifications, and applications. *Chem Rev*. 2007;107(7):2891-959.

Cheng LC, Jiang X, Wang J, Chen C, Liu RS. Nano-bio effects: interaction of nanomaterials with cells. *Nanoscale*. 2013;5(9):3547-69.

Cibim DD. Nanotecnologia aplicada ao cimento de ionômero de vidro convencional: avaliação das propriedades físico-químicas e biológicas: UNICAMP; 2016.

D'Alpino PH, Silva MS, Vismara MV, Di Hipolito V, Miranda Gonzalez AH, de Oliveira Graeff CF. The effect of polymerization mode on monomer conversion, free radical entrapment, and interaction with hydroxyapatite of commercial self-adhesive cements. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2015;46:83-92.

Dafar MO, Grol MW, Canham PB, Dixon SJ, Rizkalla AS. Reinforcement of flowable dental composites with titanium dioxide nanotubes. *Dent Mater*. 2016;32(6):817-26.

Damodaran VB, Bhatnagar D, Leszczak V, Popat KC. Titania nanostructures: a biomedical perspective. *Rsc Advances*. 2015;5(47):37149-71.

Darr AH, Jacobsen PH. Conversion of Dual Cure Luting Cements. *Journal of Oral Rehabilitation*. 1995;22(1):43-7.

Darvell BW. Ciências dos materiais para Odontologia restauradora. 9ed, editor. São Paulo: Santos: Santos Editora LTDA; 2012. 688 p.

De Angelis F, Minnoni A, Vitalone LM, Carluccio F, Vadini M, Paolantonio M, et al. Bond strength evaluation of three self-adhesive luting systems used for cementing composite and porcelain. *Oper Dent*. 2011;36(6):626-34.

De Munck J, Vargas M, Van Landuyt K, Hikita K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Bonding of an auto-adhesive luting material to enamel and dentin. *Dent Mater*. 2004;20(10):963-71.

Derand T, Molin M, Kvam K. Bond strength of composite luting cement to zirconia ceramic surfaces. *Dent Mater*. 2005;21(12):1158-62.

Devan RS, Patil RA, Lin JH, Ma YR. One-Dimensional Metal-Oxide Nanostructures: Recent Developments in Synthesis, Characterization, and Applications. *Advanced Functional Materials*. 2012;22(16):44.

Di Francescantonio M, Aguiar TR, Arrais CA, Cavalcanti AN, Davanzo CU, Giannini M. Influence of viscosity and curing mode on degree of conversion of dual-cured resin cements. *Eur J Dent*. 2013;7(1):81-5.

Di Hipolito V, Rodrigues FP, Piveta FB, Azevedo Lda C, Bruschi Alonso RC, Silikas N, et al. Effectiveness of self-adhesive luting cements in bonding to chlorhexidine-treated dentin. *Dent Mater*. 2012;28(5):495-501.

Diaz-Arnold AM, Vargas MA, Haselton DR. Current status of luting agents for fixed prosthodontics. *J Prosthet Dent*. 1999;81(2):135-41.

Dickens SH, Stansbury JW, KM C, Floyd CJE. Photopolymerization kinetics of methacrylate dental resins. *Macromolecules*. 2003;36:7.

Duymus ZY, Yanikoglu ND, Alkurt M. Evaluation of the flexural strength of dual-cure composite resin cements. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2013;101(5):878-81.

Elsaka SE, Hamouda IM, Swain MV. Titanium dioxide nanoparticles addition to a conventional glass-ionomer restorative: influence on physical and antibacterial properties. *J Dent*. 2011;39(9):589-98.

Ergun G, Egilmez F, Yilmaz S. Effect of reduced exposure times on the cytotoxicity of resin luting cements cured by high-power led. *Journal of Applied Oral Science*. 2011;19(3):286-92.

Faria-e-Silva A, Boaro L, Braga R, Piva E, Arias V, Martins L. Effect of immediate or delayed light activation on curing kinetics and shrinkage stress of dual-cure resin cements. *Oper Dent*. 2011;36(2):196-204.

Federlin M, Hiller KA, Schmalz G. Effect of selective enamel etching on clinical performance of CAD/CAM partial ceramic crowns luted with a self-adhesive resin cement. *Clin Oral Investig*. 2014;18(8):1975-84.

Fernandes VV, Jr., Rodrigues JR, da Silva JM, Pagani C, Souza RO. Bond strength of a self-adhesive resin cement to enamel and dentin. *Int J Esthet Dent*. 2015;10(1):146-56.

Ferracane JL. Elution of Leachable Components from Composites. *Journal of Oral Rehabilitation*. 1994;21(4):441-52.

Ferracane JL, Greener EH. The effect of resin formulation on the degree of conversion and mechanical properties of dental restorative resins. *J Biomed Mater Res*. 1986;20(1):121-31.

Ferracane JL, Greener EH. Fourier transform infrared analysis of degree of polymerization in unfilled resins-methods comparison. *J Dent Res*. 1984;63(8):1093-5.

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

Floyd CJE, Dickens SH. Network structure of bis-GMA- and UDMA-based resin systems. *Dental Materials*. 2006;22(12):1143-9.

Frankenberger R, Taschner M, Garcia-Godoy F, Petschelt A, Kramer N. Leucite-reinforced glass ceramic inlays and onlays after 12 years. *J Adhes Dent*. 2008;10(5):393-8.

Fukegawa D, Hayakawa S, Yoshida Y, Suzuki K, Osaka A, Van Meerbeek B. Chemical interaction of phosphoric acid ester with hydroxyapatite. *J Dent Res*. 2006;85(10):941-4.

Furuichi T, Takamizawa T, Tsujimoto A, Miyazaki M, Barkmeier WW, Latta MA. Mechanical Properties and Sliding-impact Wear Resistance of Self-adhesive Resin Cements. *Oper Dent*. 2016;41(3):E83-92.

Gajewski VE, Pfeifer CS, Froes-Salgado NR, Boaro LC, Braga RR. Monomers used in resin composites: degree of conversion, mechanical properties and water sorption/solubility. *Braz Dent J*. 2012;23(5):508-14.

Garcia-Contreras R, Scougall-Vilchis RJ, Contreras-Bulnes R, Sakagami H, Morales-Luckie RA, Nakajima H. Mechanical, antibacterial and bond strength properties of nano-titanium-enriched glass ionomer cement. *Journal of Applied Oral Science*. 2015;23(3):321-8.

Geurtsen W, Lehmann F, Spahl W, Leyhausen G. Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives in permanent 3T3 and three human primary fibroblast cultures. *J Biomed Mater Res*. 1998;41(3):474-80.

Goncalves F, Boaro LC, Miyazaki CL, Kawano Y, Braga RR. Influence of polymeric matrix on the physical and chemical properties of experimental composites. *Braz Oral Res*. 2015;29(1):S1806-83242015000100307.

Goto K, Tamura J, Shinzato S, Fujibayashi S, Hashimoto M, Kawashita M, et al. Bioactive bone cements containing nano-sized titania particles for use as bone substitutes. *Biomaterials*. 2005;26(33):6496-505.

Grabowska E, Diak D, Marchelek M, A. Z. Decahedral TiO₂ with exposed facets: Synthesis, properties, photoactivity and applications. *Applied Catalysis B: Environmental*. 2014;156:22.

Groth T, Falck P, Miethke R. Cytotoxicity of biomaterials - basic mechanisms and in vitro methods: a review. *ATLA*. 1995;23:9.

Han L, Okamoto A, Fukushima M, Okiji T. Evaluation of physical properties and surface degradation of self-adhesive resin cements. *Dent Mater J*. 2007;26(6):906-14.

Harashima I, Nomata T, Hirasawa T. Degree of Conversion of Dual-Cured Composite Luting Cements. *Dental Material Journal*. 1991;10(1):9.

Hattar S, Hatamleh MM, Sawair F, Al-Rabab'ah M. Bond strength of self-adhesive resin cements to tooth structure. *Saudi Dent J*. 2015;27(2):70-4.

Heo YJ, Lee GH, Park JK, Ro JH, Garcia-Godoy F, Kim HI, et al. Effect of energy density on low-shrinkage composite resins: diode-pumped solid state laser versus quartz-tungsten-halogen light-curing unit. *Photomed Laser Surg*. 2013;31(1):28-35.

Hikita K, Van Meerbeek B, De Munck J, Ikeda T, Van Landuyt K, Maida T, et al. Bonding effectiveness of adhesive luting agents to enamel and dentin. *Dent Mater*. 2007;23(1):71-80.

Hitz T, Stawarczyk B, Fischer J, Hammerle CH, Sailer I. Are self-adhesive resin cements a valid alternative to conventional resin cements? A laboratory study of the long-term bond strength. *Dent Mater*. 2012;28(11):1183-90.

Hofmann N, Papsthart G, Hugo B, Klaiber B. Comparison of photo-activation versus chemical or dual-curing of resin-based luting cements regarding flexural strength, modulus and surface hardness. *J Oral Rehabil*. 2001;28(11):1022-8.

Iijima S. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*. 1991;354:3.

Ilie N. Transmitted irradiance through ceramics: effect on the mechanical properties of a luting resin cement. *Clin Oral Investig*. 2016.

ISO 9917-2. Dentistry — Waterbased cements. International Organization for Standardization. 2010.

ISO 10993-5. Biological evaluation of medical devices Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. International Organization for Standardization. 2009.

ISO 4049. Dentistry - Polymer-based restorative materials. International Organization for Standardization. 2009.

Jongsma LA, Kleverlaan CJ, Feilzer AJ. Clinical success and survival of indirect resin composite crowns: results of a 3-year prospective study. *Dent Mater*. 2012;28(9):952-60.

Kalachandra S. Influence of fillers on the water sorption of composites. *Dent Mater.* 1989;5(4):283-8.

Kasuga T, Hiramatsu M, Hoson A, Sekino T, Niihara K. Titania Nanotubes Prepared by Chemical Processing. *Advanced Materials.* 1999;11(15):4.

Kern M, Wegner SM. Bonding to zirconia ceramic: adhesion methods and their durability. *Dent Mater.* 1998;14(1):64-71.

Kim JE, Kim JH, Shim JS, Roh BD, Shin Y. Effect of Surface Treatment on Shear Bond Strength between Resin Cement and Ce-TZP/Al₂O₃. *Biomed Res Int.* 2016;2016:7576942.

Kirmali O, Akin H, Ozdemir AK. Shear bond strength of veneering ceramic to zirconia core after different surface treatments. *Photomed Laser Surg.* 2013;31(6):261-8.

Komori PC, de Paula AB, Martin AA, Tango RN, Sinhoreti MA, Correr-Sobrinho L. Effect of light energy density on conversion degree and hardness of dual-cured resin cement. *Oper Dent.* 2010;35(1):120-4.

Kong NH, Jiang T, Zhou ZC, Fu JL. Cytotoxicity of polymerized resin cements on human dental pulp cells in vitro. *Dental Materials.* 2009;25(11):1371-5.

Kostoryz EL, Eick JD, Chappelow CC, Glaros AG, Wetmore L, Yourtee DM. In vitro effect of light-cure dental adhesive on IL-6 release from LPS-stimulated and unstimulated macrophages. *J Biomed Mater Res A.* 2003;65(1):89-94.

Kulkarni M, Mazare A, Gongadze E, Perutkova S, Kralj-Iglic V, Milosev I, et al. Titanium nanostructures for biomedical applications. *Nanotechnology.* 2015;26:18.

Lad PP, Kamath M, Tarale K, Kusugal PB. Practical clinical considerations of luting cements: A review. *J Int Oral Health.* 2014;6(1):116-20.

Lee JH, Leu IC, Hsu MC, Chung YW, Hon MH. Fabrication of aligned TiO₂ one-dimensional nanostructured arrays using a one-step templating solution approach. *J Phys Chem B.* 2005;109(27):13056-9.

Li ZC, White SN. Mechanical properties of dental luting cements. *Journal of Prosthetic Dentistry.* 1999;81(5):597-609.

Liu Q, Meng X, Yoshida K, Luo X. Bond degradation behavior of self-adhesive cement and conventional resin cements bonded to silanized ceramic. *J Prosthet Dent.* 2011;105(3):177-84.

Madruga FC, Ogliari FA, Ramos TS, Bueno M, Moraes RR. Calcium hydroxide, pH-neutralization and formulation of model self-adhesive resin cements. *Dent Mater.* 2013;29(4):413-8.

Magne P, Paranhos MP, Burnett LH, Jr. New zirconia primer improves bond strength of resin-based cements. *Dent Mater*. 2010;26(4):345-52.

Makkar S, Malhotra N. Self-adhesive resin cements: a new perspective in luting technology. *Dent Update*. 2013;40(9):758-60, 63-4, 67-8.

Malacarne J, Carvalho RM, de Goes MF, Svizero N, Pashley DH, Tay FR, et al. Water sorption/solubility of dental adhesive resins. *Dent Mater*. 2006;22(10):973-80.

Marcondes M, Souza N, Manfroi FB, Burnett LH, Jr., Spohr AM. Clinical Evaluation of Indirect Composite Resin Restorations Cemented with Different Resin Cements. *J Adhes Dent*. 2016;18(1):59-67.

Medina-Valdivia JR. Resistência de união entre cimentos resinosos e zircônia [Tese]: Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo; 2011.

Mese A, Burrow MF, Tyas MJ. Sorption and solubility of luting cements in different solutions. *Dent Mater J*. 2008;27(5):702-9.

Misra DN. Adsorption of 4-methacryloxyethyl trimellitate anhydride (4-META) on hydroxyapatite and its role in composite bonding. *J Dent Res*. 1989;68(1):42-7.

Molin MK, Karlsson SL. A randomized 5-year clinical evaluation of 3 ceramic inlay systems. *Int J Prosthodont*. 2000;13(3):194-200.

Monteiro GQM, Souza FB, Pedrosa RF, Sales GCF, Castro CMMB, Fraga SN, et al. In Vitro Biological Response to a Self-Adhesive Resin Cement Under Different Curing Strategies. *Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials*. 2010;92b(2):317-21.

Mor GK, Shankar K, Paulose M, Varghese OK, Grimes CA. Use of highly-ordered TiO(2) nanotube arrays in dye-sensitized solar cells. *Nano Lett*. 2006;6(2):215-8.

Moreira Fdo C, Antoniosi Filho NR, Souza JB, Lopes LG. Sorption, solubility and residual monomers of a dental adhesive cured by different light-curing units. *Braz Dent J*. 2010;21(5):432-8.

Morgan LF, Teixeira KI, Vasconcellos WA, Albuquerque RC, Cortes ME. Correlation between the cytotoxicity of self-etching resin cements and the degree of conversion. *Indian J Dent Res*. 2015;26(3):284-8.

Naranjo J, Ali M, Belles D. Comparison of shear bond strength of self-etch and self-adhesive cements bonded to lithium disilicate, enamel and dentin. *Tex Dent J*. 2015;132(11):914-21.

Neumann MG, Miranda WG, Jr., Schmitt CC, Rueggeberg FA, Correa IC. Molar extinction coefficients and the photon absorption efficiency of dental photoinitiators and light curing units. *J Dent*. 2005;33(6):525-32.

- Oliveira M, Cesar PF, Giannini M, Rueggeberg FA, Rodrigues J, Arrais CA. Effect of temperature on the degree of conversion and working time of dual-cured resin cements exposed to different curing conditions. *Oper Dent*. 2012;37(4):370-9.
- Ozcan M, Bernasconi M. Adhesion to zirconia used for dental restorations: a systematic review and meta-analysis. *J Adhes Dent*. 2015;17(1):7-26.
- Ozcan M, Kerkdijk S, Valandro LF. Comparison of resin cement adhesion to Y-TZP ceramic following manufacturers' instructions of the cements only. *Clin Oral Investig*. 2008;12(3):279-82.
- Pameijer CH, Stanley HR. Pulp reactions to resin cements. *Am J Dent*. 1992;5(2):81-7.
- Passos SP, Nychka JA, Major P, Linke B, Flores-Mir C. In vitro fracture toughness of commercial Y-TZP ceramics: a systematic review. *J Prosthodont*. 2015;24(1):1-11.
- Pedreira APRV, Pegoraro LF, de Goes MF, Pegoraro TA, Carvalho RM. Microhardness of resin cements in the intraradicular environment: Effects of water storage and softening treatment. *Dental Materials*. 2009;25(7):868-76.
- Pegoraro TA. Efeito do protocolo de ativação da polimerização e envelhecimento acelerado em algumas propriedades de cimentos resinosos [Tese]. Bauru: Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo; 2010.
- Pegoraro TA, da Silva NR, Carvalho RM. Cements for use in esthetic dentistry. *Dent Clin North Am*. 2007;51(2):453-71, x.
- Peters AD, Meiers JC. Effect of polymerization mode of a dual-cured resin cement on time-dependent shear bond strength to porcelain. *Am J Dent*. 1996;9(6):264-8.
- Petropoulou A, Vrochari AD, Hellwig E, Stampf S, Polydorou O. Water sorption and water solubility of self-etching and self-adhesive resin cements. *J Prosthet Dent*. 2015.
- Peumans M, Voet M, De Munck J, Van Landuyt K, Van Ende A, Van Meerbeek B. Four-year clinical evaluation of a self-adhesive luting agent for ceramic inlays. *Clin Oral Investig*. 2013;17(3):739-50.
- Peutzfeldt A. Resin composites in dentistry: the monomer systems. *Eur J Oral Sci*. 1997;105(2):97-116.
- Peutzfeldt A, Asmussen E. Resin composite properties and energy density of light cure. *Journal of Dental Research*. 2005;84(7):659-62.
- Pfeifer CS, Silva LR, Kawano Y, Braga RR. Bis-GMA co-polymerizations: Influence on conversion, flexural properties, fracture toughness and susceptibility to ethanol degradation of experimental composites. *Dental Materials*. 2009;25(9):1136-41.
-

- Piowarczyk A, Bender R, Ottl P, Lauer HC. Long-term bond between dual-polymerizing cementing agents and human hard dental tissue. *Dent Mater*. 2007;23(2):211-7.
- Platt JA. Resin cements: into the 21st century. *Compend Contin Educ Dent*. 1999;20(12):1173-6, 8, 80-2; quiz 84.
- Podila R, Brown JM. Toxicity of engineered nanomaterials: a physicochemical perspective. *J Biochem Mol Toxicol*. 2013;27(1):50-5.
- Poosti M, Ramazanzadeh B, Zebarjad M, Javadzadeh P, Naderinasab M, Shakeri MT. Shear bond strength and antibacterial effects of orthodontic composite containing TiO₂ nanoparticles. *Eur J Orthod*. 2013;35(5):676-9.
- Puppini-Rontani RM, Dinelli RG, de Paula AB, Fucio SB, Ambrosano GM, Pascon FM. In-depth polymerization of a self-adhesive dual-cured resin cement. *Oper Dent*. 2012;37(2):188-94.
- Qeblawi DM, Campillo-Funollet M, Munoz CA. In vitro shear bond strength of two self-adhesive resin cements to zirconia. *J Prosthet Dent*. 2015;113(2):122-7.
- Radovic I, Monticelli F, Goracci C, Vulicevic ZR, Ferrari M. Self-adhesive resin cements: a literature review. *J Adhes Dent*. 2008;10(4):251-8.
- Ramos CM, Cesar PF, Lia Mondelli RF, Tabata AS, de Souza Santos J, Sanches Borges AF. Bond strength and Raman analysis of the zirconia-feldspathic porcelain interface. *J Prosthet Dent*. 2014;112(4):886-94.
- Rekow D, Thompson VP. Engineering long term clinical success of advanced ceramic prostheses. *J Mater Sci Mater Med*. 2007;18(1):47-56.
- Rodrigues JA, Fernández-García M. *Synthesis, Properties, and Applications of Oxide Nanomaterials*. New Jersey: JohnWiley & Sons, Inc; 2007.
- Rodrigues RF, Ramos CM, Francisconi PA, Borges AF. The shear bond strength of self-adhesive resin cements to dentin and enamel: an in vitro study. *J Prosthet Dent*. 2015;113(3):220-7.
- Roy P, Berger S, Schmuki P. TiO₂ nanotubes: synthesis and applications. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2011;50(13):2904-39.
- Rueggeberg FA, Caughman WF. The influence of light exposure on polymerization of dual-cure resin cements. *Oper Dent*. 1993;18(2):48-55.
- Rueggeberg FA, Caughman WF, Curtis JW, Jr. Effect of light intensity and exposure duration on cure of resin composite. *Oper Dent*. 1994;19(1):26-32.
- Schenke F, Federlin M, Hiller KA, Moder D, Schmalz G. Controlled, prospective, randomized, clinical evaluation of partial ceramic crowns inserted with RelyX Unicem
-

with or without selective enamel etching. Results after 2 years. *Clin Oral Investig*. 2012;16(2):451-61.

Schoiswohl J, Surnev S, Sock M, Ramsey MG, Kresse G, Netzer FP. Thermodynamically controlled self-assembly of two-dimensional oxide nanostructures. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2004;43(41):5546-9.

Sekhri S, Mittal S, Garg S. Tensile Bond Strength of Self Adhesive Resin Cement After Various Surface Treatment of Enamel. *J Clin Diagn Res*. 2016;10(1):ZC01-4.

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

Soares CJ, Bicalho AA, Verissimo C, Soares P, Tantbirojn D, Versluis A. Delayed Photo-activation Effects on Mechanical Properties of Dual Cured Resin Cements and Finite Element Analysis of Shrinkage Stresses in Teeth Restored With Ceramic Inlays. *Oper Dent*. 2016.

Suh BI, Feng L, Pashley DH, Tay FR. Factors contributing to the incompatibility between simplified-step adhesives and chemically-cured or dual-cured composites. Part III. Effect of acidic resin monomers. *J Adhes Dent*. 2003;5(4):267-82.

Sun J, Forster AM, Johnson PM, Eidelman N, Quinn G, Schumacher G, et al. Improving performance of dental resins by adding titanium dioxide nanoparticles. *Dent Mater*. 2011;27(10):972-82.

Tarle Z, Knezevic A, Demoli N, Meniga A, Sutalo J, Unterbrink G, et al. Comparison of composite curing parameters: effects of light source and curing mode on conversion, temperature rise and polymerization shrinkage. *Oper Dent*. 2006;31(2):219-26.

Taschner M, Kramer N, Lohbauer U, Pelka M, Breschi L, Petschelt A, et al. Leucite-reinforced glass ceramic inlays luted with self-adhesive resin cement: a 2-year in vivo study. *Dent Mater*. 2012;28(5):535-40.

Tezvergil-Mutluay A, Lassila LV, Vallittu PK. Degree of conversion of dual-cure luting resins light-polymerized through various materials. *Acta Odontol Scand*. 2007;65(4):201-5.

Tian M, Gao Y, Liu Y, Liao YL, Xu RW, Hedin NE, et al. Bis-GMA/TEGDMA dental composites reinforced with electrospun nylon 6 nanocomposite nanofibers containing highly aligned fibrillar silicate single crystals. *Polymer*. 2007;48(9):2720-8.

Toledano M, Osorio R, Osorio E, Fuentes V, Prati C, Garcia-Godoy F. Sorption and solubility of resin-based restorative dental materials. *J Dent*. 2003;31(1):43-50.

Urcan E, Haertel U, Styllou M, Hickel R, Scherthan H, Reichl FX. Real-time xCELLigence impedance analysis of the cytotoxicity of dental composite components on human gingival fibroblasts. *Dent Mater*. 2010;26(1):51-8.

- Van Meerbeek B, Dhem A, Goret-Nicaise M, Braem M, Lambrechts P, VanHerle G. Comparative SEM and TEM examination of the ultrastructure of the resin-dentin interdiffusion zone. *J Dent Res*. 1993;72(2):495-501.
- Van Meerbeek B, Inokoshi S, Willems G, Noack MJ, Braem M, Lambrechts P, et al. Marginal adaptation of four tooth-coloured inlay systems in vivo. *J Dent*. 1992;20(1):18-26.
- Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, et al. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater*. 2010;26(2):e100-21.
- Vaz RR, Hipolito VD, D'Alpino PH, Goes MF. Bond strength and interfacial micromorphology of etch-and-rinse and self-adhesive resin cements to dentin. *J Prosthodont*. 2012;21(2):101-11.
- Vo DQ, Kim EJ, Kim S. Surface modification of hydrophobic nanocrystals using short-chain carboxylic acids. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2009;337(1):75-80.
- Vrochari AD, Eliades G, Hellwig E, Wrbas KT. Curing efficiency of four self-etching, self-adhesive resin cements. *Dent Mater*. 2009;25(9):1104-8.
- Wegner SM, Kern M. Long-term resin bond strength to zirconia ceramic. *J Adhes Dent*. 2000;2(2):139-47.
- Wolfart M, Lehmann F, Wolfart S, Kern M. Durability of the resin bond strength to zirconia ceramic after using different surface conditioning methods. *Dent Mater*. 2007;23(1):45-50.
- Xia Y, Zhang F, Xie H, Gu N. Nanoparticle-reinforced resin-based dental composites. *J Dent*. 2008;36(6):450-5.
- Yap AUJ, Lee HK, Sabapathy R. Release of methacrylic acid from dental composites. *Dental Materials*. 2000;16(3):172-9.
- Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, et al. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res*. 2004;83(6):454-8.
- Yoshihara K, Yoshida Y, Hayakawa S, Nagaoka N, Irie M, Ogawa T, et al. Nanolayering of phosphoric acid ester monomer on enamel and dentin. *Acta Biomater*. 2011;7(8):3187-95.
- Yoshihara K, Yoshida Y, Nagaoka N, Fukeygawa D, Hayakawa S, Mine A, et al. Nano-controlled molecular interaction at adhesive interfaces for hard tissue reconstruction. *Acta Biomater*. 2010;6(9):3573-82.
-