

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 04/03/2025.

Letícia Gonçalves Oliveira Menezes

**Avaliação das propriedades bioativas, microbiológicas e
físico-mecânicas de cimentos de ionômero de vidro
modificados com trimetafosfato de sódio e nanopartículas
de óxido de zinco: estudo *in vitro***

Araçatuba – SP
2024

Letícia Gonçalves Oliveira Menezes

Avaliação das propriedades bioativas, microbiológicas e físico-mecânicas de cimentos de ionômero de vidro modificados com trimetafosfato de sódio e nanopartículas de óxido de zinco: estudo *in vitro*

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Araçatuba, para obtenção de título de Mestre em Ciências - Área de Concentração: Saúde Bucal da Criança.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marcelle Danelon

Araçatuba – SP
2024

Catálogo-na-Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

Menezes, Letícia Gonçalves Oliveira.

M543a Avaliação das propriedades bioativas, microbiológicas e físico-mecânicas de cimentos de ionômero de vidro modificados com trimetafosfato de sódio e nanopartículas de óxido de zinco: estudo in vitro / Letícia Gonçalves Oliveira Menezes. - Araçatuba, 2024
76 f. : il. ; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientadora: Profa. Marcelle Danelon

1. Cimento de ionômero de vidro 2. Fosfatos 3. Nanopartículas 4. Óxido de zinco 5. Dureza 6. Propriedades de superfície 7. Biofilmes I. T.

Black D27
CDD 617.645

Claudio Hideo Matsumoto – CRB-8/5550

Dados Curriculares

Letícia Gonçalves Oliveira Menezes

Nascimento	22.11.1997 – Piumhi – MG
Filiação	José Elias de Oliveira Ana Rosa Gonçalves Oliveira
2017/2021	Curso de Graduação em Odontologia pela Universidade de Ribeirão Preto – SP
2022/2024	Desenvolvimento de Projeto de Mestrado com auxílio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).
Associações	CROSP - Conselho Regional de Odontologia de São Paulo. SBPqO - Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica.

Dedicatória

Letícia Gonçalves Oliveira Menezes

Dedico este trabalho,

Ao meu marido Leonardo,

Que sempre está ao meu lado me incentivando, me encorajando, demonstrando muito amor e carinho. Meu apoio e força para toda e qualquer situação da vida. Obrigada por existir. Te amo imensamente.

Ao meu filho Isaque,

Que esteve comigo nessa caminhada, em algumas viagens para execução dos experimentos e após o seu nascimento, ao meu lado para a condução desse trabalho. Obrigada pela companhia em todo o tempo. Amo você.

Agradecimentos Especiais

Leticia Gonçalves Oliveira Menezes

A Deus,

Que por sua graça imerecida cuidou de cada detalhe dessa trajetória, agradeço pelas pessoas maravilhosos que colocou na minha vida, pelas viagens e pela experiência desafiadora e maravilhosa que a pesquisa me concedeu.

Aos meus pais José e Ana,

Obrigada pelo amor e apoio. Vocês foram essenciais nesse trajeto, pois sempre confiaram que eu seria capaz de chegar ao final. É muito bom saber que posso contar com vocês em todos os momentos.

Aos meu sogros Leví e Roseli,

Vocês foram abrigo durante a minha jornada, apoiaram minhas escolhas e estiveram prontos para me ajudar. Obrigada pelas orações.

A toda família e amigos,

Obrigada pela força, pelo apoio e pelos momentos de descontração. Deus os abençoe e retribua pelas palavras de carinho e confiança.

A minha Orientadora,

Professora Dra. Marcelle Danelon,

Por ter me aceitado como orientada e por todos os ensinamentos, dedicação, paciência e compreensão. Por ter me ensinado a acreditar

que tudo é possível. Por estar ao meu lado desde o início da graduação até aqui, me ajudando a crescer como profissional e pessoa, a ser mais criteriosa e dedicada. Deus abençoe pela dedicação e amor. Desejo que todos os seus planos e projetos se realizem e sempre estarei torcendo.

Aos docentes das Disciplinas da Pós-graduação

Obrigada por transmitir a experiência e o conhecimento que transcendem a Faculdade. Cada um dos professores que tive a oportunidade de conhecer e aprender tiveram uma papel importante na minha vida como discente.

Aos amigos da Pós-graduação,

Francienne, pela ajuda nas etapas da pesquisa, obrigada pelo carinho e paciência. **Gabriela e Gabrielle**, obrigada pelo convívio durante as viagens para desenvolvimento da pesquisa, foram momentos de muito aprendizado e risadas, com certeza vocês fizeram essa jornada mais leve.

Laura e Evelyn, muito obrigada pela amizade construída durante esse tempo mesmo estando a quilômetros de distância vocês se fizeram presentes. Amigos de outra Faculdade: **Analú**, grata por todo carinho e competência que foram dispensados durante a execução de uma grande parte da pesquisa. Você é um exemplo de pessoa e profissional. Estarei sempre torcendo por você. **Antônio**, obrigada pelo carinho e paciência durante a orientação do experimento.

A Professora Andréa Simone Stucchi de Camargo A. Bernardes e Drº Leandro Piaggi Ravaró,

Do Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil pelo apoio na síntese e caracterização das nanopartículas de óxido de zinco.

Ao Professor João Carlos Síllos Moraes,

Por ceder gentilmente o aparelho FTIR para realização do teste de grau de conversão de monômeros, no laboratório de Física e Química da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP. Agradeço a dedicação, paciência e os ensinamentos.

A Professora Fernanda Lourenção Brighenti,

Da Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr/UNESP, por ter apoiado a realização das análises antimicrobianas no Laboratório de pesquisa bioquímica e microbiológica.

A Professora Larissa Moreira Spínola de Castro Raucí,

Da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – FORP/USP, por ter apoiado a realização dos experimentos de citotoxicidade no Laboratório Cultura de Células e Biologia Molecular.

A Seção de Pós-Graduação,

Cristiane e Valéria, muito obrigada por toda atenção e paciência.

A Faculdade de Odontologia de Araçatuba,

Na pessoa dos professores: Prof. Titular Alberto Carlos Botazzo Delbem, digníssimo Diretor e Prof. Associado Luciano Tavares Angelo Cintra digníssimo Vice-Diretor.

Ao Curso de Pós-Graduação em Ciências da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP,

Na pessoa do Coordenador Prof. Associado Juliano Pelim Pessan.

A Empresa GC® Corporation

Pela disponibilidade dos cimentos de ionômero de vidro para realização da pesquisa.

Ao Team Danelon,

Obrigada meninas por sempre estarem dispostas a ajudar, vocês fazem toda diferença no Team Danelon.

A aluna de Iniciação Científica Beatriz Aíub,

Pelo envolvimento no projeto e ajuda durante a execução dos experimentos.

*A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
(FAPESP).*

Pela concessão de recursos (Processos: 2021/10742-0 e 2022/08068-2) para a aluna de Iniciação Científica Beatriz Aiub e a mim.

Epígrafe

*“Tu és o meu Deus; graças te darei! Ó meu
Deus, eu te exaltarei! Deem graças ao
Senhor, porque ele é bom; o seu amor dura
para sempre.”*

Salmo 118: 28-29

Resumo

Leticia Gonçalves Oliveira Menezes

Menezes, LGO. **Avaliação das propriedades bioativas, microbiológicas e físico-mecânicas de cimentos de ionômero de vidro modificados com trimetafosfato de sódio e nanopartículas de óxido de zinco: estudo *in vitro***. 2024 76f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba 2024.

Objetivo: Avaliar o efeito da incorporação de nanopartículas de óxido de zinco (ZnONPs) e micropartículas de trimetafosfato de sódio (TMP) em cimento de ionômero de vidro modificado por resina (CIVMR), sobre as propriedades físico-mecânicas, microbiológicas e citotóxicas. **Material e métodos:** Foram confeccionados corpos-de-prova (n=6): 1) CIVMR sem ZnONPs/TMP (CIVMR, Fuji II LC); 2) CIVMR-1,0%ZnONPs; 3) CIVMR-2,0%ZnONPs; 4) CIVMR-14,0%TMP; 5) CIVMR-1,0%ZnONPs-14,0%TMP e 6) CIVMR-2,0%ZnONPs-14,0%TMP. Determinou-se a Resistência à Tração e Compressão (RT e RC), Dureza de Superfície (DS) após 24 horas/7 dias, Rugosidade de Superfície (RS) e Porcentagem do Grau de Conversão dos Monômeros (%GC) após 24 horas. Para a liberação de fluoreto (F), corpos de prova foram imersos em solução desmineralizadora (6 horas) e remineralizadora (18 horas) por 15 dias. A atividade antimicrobiana/antibiofilme foi avaliada pelo teste de adesão, crescimento de biofilme e avaliação do metabolismo do biofilme (XTT) (*S. mutans*, UA159) respectivamente. Já a análise da Citotoxicidade foi determinada pelo método da resazurina sobre a linhagem de Odontoblastos MDPC23. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste Student-Newman-Keuls ($p < 0,001$). **Resultados:** A RC para o grupo CIVMR-2,0%ZnONPs foi superior em 22,5% quando comparado ao CIVMR no período de 24 horas ($p < 0,001$); no período de 7 dias o grupo CIVMR-2,0%ZnONPS-14,0%TMP foi superior ao CIVMR em 23,4% ($p < 0,001$). Após 7 dias, para os dados de RT, todos os grupos apresentaram valores similares entre si ($P > 0,001$), exceto o grupo CIVMR-2,0%ZnONPs-14,0%TMP o qual foi superior em 37% e 55,4% em relação ao CIVMR e CIVMR-14,0%TMP, respectivamente ($p < 0,001$). Na análise da DS (KHN), após as 24 horas, observou-se que o grupo CIVMR-2,0%ZnONPs-14,0%TMP apresentou o maior valor quando comparado aos demais grupos ($p < 0,001$). Os dados de RS mostram similaridade para todos os grupos assim como para %GC ($p > 0,001$). A maior liberação de F, após 15 dias, foi verificada para o grupo CIVMR-2,0%ZnONPs-14,0%TMP ($p < 0,001$). O maior efeito na redução da viabilidade bacteriana foi observado para o grupo CIVMR-2,0%ZnONPs-14,0%TMP ($p < 0,001$). Para análise da citotoxicidade, no tempo de 24 horas, o grupo CIVMR-1,0%ZnONPs-14,0%TMP foi o que

apresentou a melhor citocompatibilidade, apresentando superioridade em relação ao CIVMR em 33,3% ($p < 0,001$). Nos tempos de 48 e 72 horas de exposição aos cimentos, os grupos CIVMR-1,0%ZnONPs, CIVMR-2,0%ZnONPs, CIVMR-1,0%ZnONPs-14,0%TMP e CIVMR-2,0%ZnONPs-14,0%TMP apresentaram a menor citotoxicidade e similar ao DMEM ($p < 0,001$). **Conclusão:** Diante dos resultados obtidos conclui-se que a incorporação de 2,0%ZnONPs e 14,0%TMP ao CIVMR melhorou suas propriedades físico-mecânicas, microbiológicas e reduziu seu potencial citotóxico, podendo tornar-se um biomaterial promissor para procedimentos restauradores, promovendo a biomineralização dos tecidos dentários duros e com efeito anticariogênico.

Palavras-chave: Cimento de ionômero de vidro; Fosfato; Nanopartículas; Óxido de zinco; Dureza; Propriedades de superfície; Biofilme.

Abstract

Leticia Gonçalves Oliveira Menezes

Menezes, LGO. **Evaluation of the bioactive, microbiological and physical-mechanical properties of glass ionomer cements modified with sodium trimetaphosphate and zinc oxide nanoparticles: *in vitro* study.** 2024 76f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba 2024.

Objective: To evaluate the effect of incorporating zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) and sodium trimetaphosphate microparticles (TMP) into resin-modified glass ionomer cement (RMGIC) on its physicommechanical, microbiological and cytotoxic properties. **Material and methods:** Test specimens (n=6) were made: 1) RMGIC without ZnONPs/TMP (RMGIC, Fuji II LC); 2) RMGIC-1.0%ZnONPs; 3) RMGIC-2.0%ZnONPs; 4) RMGIC-14.0%TMP; 5) RMGIC-1.0%ZnONPs-14.0%TMP and 6) RMGIC-2.0%ZnONPs-14.0%TMP. The tensile and compressive strengths (TS and CS), surface hardness (SH) after 24 hours/7 days, surface roughness (SR) and percentage degree of monomer conversion (%DC) after 24 hours were determined. For the release of fluoride (F), specimens were immersed in a demineralizing (6 hours) and remineralizing (18 hours) solution for 15 days. Antimicrobial/antibiofilm activity was assessed by the adhesion test, biofilm growth and biofilm metabolism assessment (XTT) (*S. mutans*, UA159) respectively. Cytotoxicity analysis was determined using the resazurin method on the MDPC23 odontoblast strain. The results were submitted to analysis of variance (ANOVA), followed by the Student-Newman-Keuls test ($p < 0.001$). **Results:** The CR for the RMGIC-2.0%ZnONPs group was 22.5% higher when compared to RMGIC in the 24-hour period ($p < 0.001$); in the 7-day period, the RMGIC-2.0%ZnONPs-14.0%TMP group was 23.4% higher than RMGIC ($p < 0.001$). After 7 days, for the RT data, all the groups showed similar values ($P > 0.001$), except for the RMGIC-2.0%ZnONPs-14.0%TMP group, which was 37% and 55.4% higher than RMGIC and RMGIC-14.0%TMP, respectively ($p < 0.001$). Analysis of the SH (KHN) after 24 hours showed that the RMGIC-2.0%ZnONPs-14.0%TMP group had the highest value compared to the other groups ($p < 0.001$). The RS data showed similarity for all groups, as well as for %DC ($p > 0.001$). The greatest release of F after 15 days was seen in the RMGIC-2.0%ZnONPs-14.0%TMP group ($p < 0.001$). The greatest effect on reducing bacterial viability was observed for the RMGIC-2.0%ZnONPs-14.0%TMP group ($p < 0.001$). For cytotoxicity analysis, at 24 hours, the RMGIC-1.0%ZnONPs-14.0%TMP group showed the better cytocompatibility, 33.3%

higher than the RMGIC group ($p < 0.001$). At 48 and 72 hours of exposure to the cements, the RMGIC-1.0%ZnONPs, RMGIC-2.0%ZnONPs, RMGIC-1.0%ZnONPs-14.0%TMP and RMGIC-2.0%ZnONPs-14.0%TMP groups showed the lowest cytotoxicity and were similar to DMEM ($p < 0.001$). **Conclusion:** In view of the results obtained, it can be concluded that the incorporation of 2.0%ZnONPs and 14.0%TMP into RMGIC improved its physical-mechanical and microbiological properties and reduced its cytotoxic potential, which could make it a promising biomaterial for restorative procedures, promoting the biomineralization of hard dental tissues and having an anticariogenic effect.

Keywords: Glass ionomer cement; Phosphate; Zinc oxide nanoparticles; Hardness; Surface properties; Biofilm.

Lista de Abreviaturas

LISTA DE ABREVIATURAS

TMP Trimetafosfato de sódio

CIVMR Cimento de Ionômero de Vidro Modificado por Resina

HEMA Hidroxietilmetacrilato

ZnONPs Nanopartículas de óxido de zinco

RT Resistência à Tração

RC Resistência à Compressão

KNH Unidade de Dureza Knoop

DS Dureza de Superfície

RS Rugosidade Superficial

Ra Rugosidade média

CIV Cimento de Ionômero de Vidro

OMI Odontologia Minimamente Invasiva

NPs Nanopartículas

M Mol

nm Nanômetros

mm Milímetros

Mpa Megapascal

DRX Difração de Raios-X

mg Miligrama

μL Microlitros

g Gramas

mL Mililitros

°C Graus Celsius

min Minutos

µm Micrometros

FTIR Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

rpm Rotações por minuto

mm Milímetros

DES Solução Desmineralizadora

RE Solução Remineralizadora

Ca Cálcio

P Fósforo

Na Sódio

F Fluoreto

Al Alumínio

O Oxigênio

C Carbono

KBr Brometo de Potássio

KCl Cloreto de Potássio

CaHPO₄⁰ Fosfato de Cálcio

HF⁰ Ácido Fluorídrico

NaOH Hidróxido de Sódio

ZnCl₂ Cloreto de Zinco

Mol/l Mol por Litro

pH Potencial Hidrogeniônico

mmol/L Milimol por Litro

µg F/mL Micrograma de flúor por microlitro

TISAB II Tampão ajustador de força iônica total

µg F/cm² Micrograma de flúor por centímetro quadrado

mm/min Milímetros por minuto

mm/s Milímetros por segundo

kN Kilo Newton

mN Miriâmetro

kgf/cm² Kilo grama força por centímetro quadrado

DTS Valor de Tensão Diametral

CIVMRs Cimentos de Ionômero de Vidro Modificado por Resina

KBr Brometo de potássio

MEV Microscopia Eletrônica de Varredura

EDS Espectroscopia de Energia Dispersiva

kV Kilo volts

h Hora

cm Centímetros

UFC/mL Unidades Formadoras de Colônias por mililitro

mg/L miligrama por Litro

cm² centímetro quadrado

µg/mL Microgramas por microlitro

UI/mL Unidade Internacional por mililitro

SBF Soro Fetal Bovino

ANOVA Análise de Variação

mA Miliampere

CO₂ Dióxido de Carbono

%GC Porcentagem do Grau de Conversão

g/mL Grama por mililitro

DO Densidade Óptica

DMEM Modified Eagle Medium

PBS phosphate buffered saline

Sumário

SUMÁRIO

RESUMO

1. Introdução	29
2. Material e métodos.....	31
3. Resultados	38
4. Discussão	40
5. Agradecimentos	45
6. Referências.....	45
7.1 ANEXO A.....	65
Síntese e Caracterização das ZnONPs	65
7.2 ANEXO B.....	66
Preparo da mistura dos CIVMRs	66
7.3 ANEXO C.....	67
Liberação de F dos CIVMRs	67
7.4 ANEXO D.....	68
Avaliação da Resistência à Compressão.....	68
7.5 ANEXO E	69
Avaliação da Resistência à Tração	69
7.6 ANEXO F	70
Avaliação da Dureza de Superfície.....	70
7.7 ANEXO G.....	71
Avaliação da Rugosidade Superficial	71
7.8 ANEXO H.....	72
Determinação da Porcentagem do Grau de Conversão dos Monômeros.....	72
7.9 ANEXO I.....	73
Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Energia Dispersiva de Raios-x (EDS)....	73
7.10 ANEXO J.....	74
Teste de Adesão ao <i>Streptococcus mutans</i>	74
7.11 ANEXO K.....	75
Avaliação do Biofilme pelo método do XTT	75
7.12 ANEXO L	76
Análise da Citotoxicidade dos CIVMR's	76