

ANÁLISE DE CITOTOXICIDADE DE DIFERENTES SISTEMAS DE INICIAÇÃO COM POTENCIAL DE USO EM POLÍMEROS RESINOSOS

BARBOSA, Marília Oliveira¹
ELY, Caroline²
OGLIARI, Fabricio Aulo³
DEMARCO, Flávio Fernando⁴
DA SILVA, Adriana Fernandes⁵

1 - Departamento de Odontologia Restauradora da Universidade Federal de Pelotas (UFPeL)-RS, Brasil. *marilinha.barbosa@gmail.com*

2 - Departamento de Odontologia Restauradora da Universidade Federal de Pelotas (UFPeL)-RS, Brasil. *carolzinha.ely@gmail.com*

3 - Departamento de Odontologia Restauradora da Universidade Federal de Pelotas (UFPeL)-RS, Brasil. *ogliari@gmail.com*

4 - Departamento de Odontologia Restauradora da Universidade Federal de Pelotas (UFPeL)-RS, Brasil. *ffdemarco@gmail.com*

5 - Departamento de Odontologia Restauradora da Universidade Federal de Pelotas (UFPeL)-RS, Brasil. *adriana@ufpel.edu.br*

1 INTRODUÇÃO

Tendo em vista que os adesivos odontológicos tem evoluído muito nos últimos anos, vários estudos nessa área tem aumentado.

Um dos problemas existentes em muitos adesivos usados comercialmente é a separação de fases quando da presença de umidade (WANG et al., 2006). E levando em consideração que dentre os adesivos de cobertura comercializados atualmente há na sua formulação a presença da canforoquinona que é um fotoiniciador sensível a luz visível e que nesses materiais ocorre o fenômeno de separação de fases, prejudicando assim suas propriedades mecânicas e de longevidade, explica-se a necessidade do uso de novos sistemas de iniciação para utilização em sistemas adesivos (ELY, 2010).

Assim, um importante requisito a ser considerado dos adesivos odontológicos existentes comercialmente ou em vias de despontar no mercado é a biocompatibilidade, uma vez que o material frequentemente permanece em íntimo contato com os tecidos dentários por um longo período de tempo, não devendo também induzir resposta inflamatória ou imune (HUANG et al., 2003).

Entende-se como biocompatibilidade a habilidade de um material provocar o desfecho de uma resposta específica em um organismo ou tecido vivos (BROWNE, 1994).

O objetivo desse estudo então foi de avaliar os efeitos citotóxicos de diferentes iniciadores em alternativa ao sistema convencional empregado nas resinas odontológicas foto-ativadas: CQ/EDAB. Os fotoiniciadores utilizados foram: tioxantona (QTX) e canforoquinona (CQ). Como co-iniciadores, foram adicionados: etil 4-dimetilaminobenzoato (EDAB), hexafluorofosfato de difeniliodônio (DPI), 1,3-dietil-2-tio-ácido barbitúrico (BARB) e ácido p-toluenosulfínico (SULF).

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Teste de citotoxicidade

Para análise do grau de citotoxicidade foi feito teste *in vitro* por meio de cultivo celular utilizando uma linhagem celular imortalizada de fibroblastos de ratos 3T3.

O meio de cultura celular utilizado foi o meio Essencial de Eagle Modificado por Dubelcco's (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB), 2% de L-glutamina, penicilina (100U/mL) e estreptomicina (100mg/mL). Em cada poço teste de uma placa de 96 poços foram colocados 1×10^4 células em 200 μ L de DMEM mais SFB. A placa foi incubada em uma estufa de CO₂ com controle de temperatura e pressão, em ambiente úmido a 37°C, 95% de ar e 5% de CO₂ por 24h de forma a permitir a adesão das células no fundo da placa de cultivo.

Análise da citotoxicidade: Ensaio MTT

O ensaio MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazólio) foi utilizado para avaliar a capacidade das células viáveis em reduzir metabolicamente o MTT por meio da enzima mitocondrial desidrogenase succínica num cristal de formazan de cor azul-púrpura que se acumula no citoplasma celular.

Depois da incubação das placas por 24h foi feita a análise utilizando-se os fotoiniciadores: tioxantona (QTX) e canforoquinona (CQ) e os co-iniciadores: etil 4-dimetilaminobenzoato (EDAB), hexafluorofosfato de difeniliodônio (DPI), 1,3-dietil-2-tio-ácido barbitúrico (BARB) e ácido p-toluenosulfínico (SULF).

Para a análise preparamos uma solução de estoque através do peso molecular dos iniciadores e, a partir dessa, as diluições correspondentes tendo cada um deles as seguintes concentrações: 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 e 10 mM. Essas soluções foram colocadas na placa para nova incubação das células.

Para as análises foram feitas de cada grupo quatro réplicas. Todo o experimento foi repetido totalizando assim, n=8.

Após o período de 24h, o meio foi removido de cada poço e colocado 180 μ L de DMEM adicionado de 20 μ L de solução de MTT (5mg/mL de DMEM) em cada poço teste. As placas foram incubadas novamente por 24h de forma a permitir o metabolismo do MTT. Passado o período, o meio foi sugado e os cristais de formazan ressuspensos em 200 μ L de dimetil sulfóxido (DMSO), com o auxílio de um agitador (150rpm por 5min).

Os resultados foram lidos em um espectrofotômetro (Thermoplate) com um comprimento de onda de 540nm, onde foram considerados os valores de absorvância como indicadores da viabilidade celular. Os dados de citotoxicidade obtidos foram analisados através do teste não-paramétrico Kruskal-Wallis e método complementar de Tukey ($\alpha= 5\%$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dados de citotoxicidade obtidos foram analisados e verificou-se que em relação aos fotoiniciadores CQ e QTX os valores não diferiram estatisticamente, embora o QTX tenha apresentado maior citotoxicidade em relação ao controle negativo nas concentrações $\geq 0,5$ ($p < 0,05$). Em relação a todos os co-iniciadores testados: EDAB, DPI, BARB ou SULF, nenhum desses apresentou diferença significativa em relação ao controle negativo. Entretanto,

existiu maior citotoxicidade quando se comparou DPI nas concentrações de 1,0 e 10mM em relação a EDAB nas concentrações de 0,1; 0,5 e 1,0mM, como também em relação ao SULF e BARB nas concentrações de 0,5 e 1,0mM, respectivamente.

Como muitos materiais usados na odontologia causam efeitos lesivos, é interessante ser estudado os efeitos citotóxicos de materiais que estão sendo pesquisados como alternativa na composição de sistemas adesivos, especialmente aqueles que apresentam elevado potencial de uso comercial.

Desta forma, faz-se importante avaliar quão segura é a polimerização dos iniciadores em relação a sua liberação com o passar do tempo, pois iniciadores que não são completamente polimerizados podem difundir-se pela boca e causar algum efeito nocivo aos tecidos bucais (MASUKI et al., 2007). Segundo o estudo de Masuki *et al.* foi demonstrado que a canforoquinona induz a necrose de fibroblastos gengivais humanos. Outros estudos também demonstram que a canforoquinona é citotóxica e que seu mecanismo de ação tóxica ainda não é completamente entendido (VOLK et al., 2009; DATAR et al., 2005). Por isso a importância de se estudar materiais alternativos a canforoquinona para tentar diminuir a citotoxicidade dos adesivos odontológicos. Diante dos resultados apresentados no presente estudo, especialmente, no que diz respeito ao QTX e DPI, é importante que outras propriedades biológicas dos promotores de iniciação venham a ser desenvolvidas, como por exemplo, usando cobaias e observarmos as reações teciduais destes tecidos frente ao emprego desses novos promotores da polimerização.

4 CONCLUSÕES

Conclui-se então que entre os fotoiniciadores o QTX foi o que apresentou maior citotoxicidade em concentrações \geq a 0,5.

Já entre os co-iniciadores o DPI apresentou maior citotoxicidade em algumas concentrações em relação ao EDAB, SULF e BARB, mas nem em todas as concentrações.

Dentro das limitações deste estudo, pode-se concluir que o uso de iniciadores alternativos, em concentrações específicas, pode ser uma alternativa ao sistema convencional CQ/EDAB empregado.

5 REFERÊNCIAS

BROWNE, R. M. Animal tests for biocompatibility of dental materials--relevance, advantages and limitations. **Journal of Dentistry**, v.22 Suppl 2, p.S21-4, 1994.

DATAR R. A.; RUEGGERBERG F. A.; CAUGHMAN G. B.; WATAHA J. C.; LEWIS J. B.; SCHUSTER G. S. Effects of sub-toxic concentrations of camphorquinone on cell lipid metabolism. **Journal of Biomaterials Science Polymer Edition**, v.16 n. 10, p. 1293–302, 2005.

ELY, C. Caracterização da cinética de polimerização e Reatividade de promotores de polimerização para Aplicação em resinas fotoativadas à base de Metacrilatos. 2010. Dissertação Mestrado em Dentística – Faculdade de Odontologia, UFPel, Pelotas, 2010.

HUANG, F. M.; CHOU, M. Y.; CHANG, Y. C. Dentin bonding agents induce c-fos and c-jun protooncogenes expression in human gingival fibroblasts. **Biomaterials**, v.24, n.1, p.157-63, 2003.

MASUKI, K.; NOMURA, Y.; BHAWAL, U. K.; SAWAJIRI, M.; HIRATA, I.; NAHARA Y.; OKAZARI, M. Apoptotic and necrotic influence of dental resin polymerization initiators in human gingival fibroblast cultures. **Dental Materials Journal**, v. 26, n. 6, p. 861-869, 2007.

VOLK J.; ZIEMANN C.; LEYHAUSEN G.; GEURTSSEN, W. Non-irradiated campherquinone induces DNA damage in human gingival fibroblasts. **Dental Materials**, v. 25, n. 12, p. 1556-1563, 2009.

WANG Y.; SPENCER P.; YAO X.; YE Q. Effect of coinitiator and water on the photoreactivity and photopolymerization of HEMA/camphorquinone-based reactant mixtures. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 78, p. 721-728, 2006.