

ANÁLISE DA CAPACIDADE INIBITÓRIA DE MMPs DE DIFERENTES PROMOTORES DE FOTOINICIAÇÃO

WULFF, Taís Hellwig
BARBOSA, Marília Oliveira
CARVALHO, Rodrigo Varela
PIVA, Evandro
Universidade Federal de Pelotas

SILVA, Adriana Fernandes
Universidade Federal de Pelotas

1 INTRODUÇÃO

A maioria dos adesivos utilizados atualmente apresenta na sua composição tanto componentes hidrofóbicos como hidrofílicos. A parte hidrofóbica confere, por exemplo, adequadas propriedades mecânicas ao material, porém possui um baixo grau de conversão à temperatura ambiente, enquanto que a hidrofílica promove a infiltração do adesivo na dentina úmida, parcialmente desmineralizada e propicia maior grau de conversão de monômeros em polímeros. (REIS; LOGUERCIO, 2007; MOSZNER; SALZ; ZIMMERMANN, 2005, VAN LANDUYT *et al.*, 2007).

Para ocorrer à adesão do material restaurador à dentina é necessário que haja a infiltração dos monômeros resinosos entre as fibrilas colágenas, expostas pelo processo de desmineralização do substrato dentinário, após a polimerização desses ocorre à formação da camada híbrida (NAKABAYASHI *et al.*, 1982). O processo de polimerização prepara polímeros a partir de monômeros devendo ser essa uma reação iniciada por radicais livres, podendo ser criados por fotoiniciadores (NOORT, 2004). Os monômeros podem ser polimerizados diretamente pela ativação da luz, pois ela excita o iniciador para produzir radicais livres (JUNIOR, 1999). Então esses radicais são transferidos para os monômeros que reagem com outros monômeros ocorrendo a partir dessa repetição a formação da cadeia de polímeros (NOORT, 2004). A interface dente/material restaurador deve apresentar valores de resistência de união suficientes para contrapor as tensões geradas pela contração de polimerização e forças mastigatórias (DELIPERE; BARDWELL; PAPATHANASIOU, 2003) para manter a durabilidade das restaurações. Porém essa zona de união apresenta uma durabilidade limitada e o seu processo de degradação se dá por consequência de vários fatores como, por exemplo, a infiltração marginal (CARRILO *et al.*; 2007 CARRILO *et al.*; 2009), incompleta impregnação dos monômeros as fibrilas colágenas e ativação de enzimas colagenolíticas (BRESCHI *et al.*; 2008). Tais enzimas como as metaloproteinases (MMPs) encontram-se presentes na matriz dentinária e estão relacionadas com o processo adesivo e contribuem para a progressiva degradação da camada híbrida ao longo do tempo (CARRILO *et al.*; 2007; CARRILO *et al.*; 2009; SANTOS *et al.*; 2009).

O principal sistema iniciador utilizado nos adesivos atuais baseia-se na presença de canforoquinona (CQ), um fotoiniciador sensível a luz visível. Quando em concentrações maiores esse iniciador apresenta algumas desvantagens

como, por exemplo, coloração bastante amarelada o que dificulta a combinação de cor com as estruturas dentais, polimerização precoce da resina pela exposição da luz do refletor ou pelo ambiente (REIS; LOGUERCIO, 2007). Por esses e por outros motivos, a introdução de novos iniciadores na formulação de adesivos odontológicos tais como o fotoiniciador tiioxantona (QTX) e os co-iniciadores hexafluorofosfato de difeniliodônio (DPI), 1,3-dietil-2-tio-ácido barbitúrico (BARBITÚRICO) e o ácido p-toluenosulfínico (SULFÍNICO) vem sendo pesquisados procurando-se aumentar a qualidade mecânica dos adesivos e a viabilidade de sua utilização (ELY, 2010).

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

A atividade proteolítica de cada monômero foi examinada em gel de poliacrilamida a 10% contendo 0,05% de gelatina. O meio condicionado pelas MMPs obtido através da saliva humana (MAKELA *et al.*, 1994) foi misturado ao tampão de amostra (2% SDS; 125mM Tris-HCl (pH 6,8); 10% de glicerol e 0,001% de azul de bromofenol) e então realizou-se a eletroforese. O gel foi incubado em tampão de revelação contendo os iniciadores utilizados no estudo. Os fotoiniciadores utilizados foram tiioxantona (QTX) e como co-iniciadores, foram adicionados: hexafluorofosfato de difeniliodônio (DPI), 1,3-dietil-2-tio-ácido barbitúrico (BARBITÚRICO) e ácido p-toluenosulfínico (SULFÍNICO) em duas concentrações: de 10mM e 5mM. Foi utilizado como controle apenas a solução tampão (Tris-CaCl₂) sem nenhum grupo teste.

Após a eletroforese, o gel foi lavado duas vezes em Triton X-100 (2%) por 30min cada em temperatura ambiente e então incubado a 37°C por 24h em tampão 50mM Tris-HCl (pH 7,4) contendo 5 mM CaCl₂ (Tris-CaCl₂). Após a incubação, os géis foram corados com Azul de Coomassie G-250 a 0,05% (Bio Rad, Richmond, CA). A atividade gelatinolítica foi detectada como bandas não coradas no gel corado em azul.

Após foi feita a análise semi-quantitativa das bandas para quantificar a inibição das MMPs pelas diferentes concentrações dos diferentes iniciadores utilizados, as bandas foram escaneadas e os valores de transmitância obtidos foram analisados usando o software ImageJ (NIH, Bethesda, MD, EUA). O grau de inibição da substância teste foi plotada e submetida à regressão linear.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A partir da análise da zimografia realizada com os diferentes iniciadores já mencionados, o resultado obtido foi que somente o ácido barbitúrico teve a capacidade de inibir as MMPs. Porém este material foi capaz de inibir as referidas enzimas quando em concentrações maiores ou iguais que 5mM, 10mM e 50mM, sendo que concentrações mais baixas: 0,5mM e 0,46mM não foram capazes de inibi-las.

Tendo em vista os estudos realizados para viabilizar a utilização desses novos iniciadores (QTX, DPI, BARBITÚRICO e SULFÍNICO) tornou-se interessante também a análise dos mesmos quanto à capacidade inibitória das MMPs. Estas enzimas além de estarem presentes nos processos fisiológicos, patológicos e de reparo, possuem um importante papel em relação à degradação da camada híbrida (RENO *et al.*, 2008; CARVALHO *et al.*, 2009).

Especificamente podemos citar a MMP-9, pois ela implica em diversos processos patológicos como: inflamatórios, infecciosos e cardiovasculares. Também está associada à invasão de células cancerosas, progressão de tumores e a degradação do colágeno (TOCHOWICZ, *et al* 2007). A busca de inibidores para as MMPs é de grande valia visto que, proporcionarão benefícios, pois estarão impedindo diversas patologias e contribuindo para a longevidade de restaurações odontológicas. Pelo fato de o ácido barbitúrico ter se mostrado um potente inibidor de tais enzimas as pesquisas a ele relacionadas devem ser continuadas para que seja possível a sua utilização clínica.

4 CONCLUSÕES

Dentre os diferentes promotores de fotoiniciação utilizados no estudo com potencial de uso em polímeros resinosos, o ácido barbitúrico foi o único capaz de inibir as metaloproteinases. Porém este material só obteve a capacidade inibitória quando em concentrações maiores ou iguais que 5mM não obtendo o mesmo resultado quando em concentrações mais baixas como 0,5mM e 0,46mM. Tal resultado é considerado satisfatório, pois dentre outros fatores que contribuem para a maior durabilidade das restaurações, estão os potenciais materiais inibidores de MMPs, os quais em tese cooperam para a estabilidade da camada híbrida por longos períodos.

5 REFERÊNCIAS

BRESCHI, L.; MAZZONI, A.; RUGGERI, A.; CADENARO, M.; DI LENARDA, R.; DORIGO, DE STEFANO E. Dental adhesion review: Aging and stability of the bonded interface **Dent Mater**, v.24, n.1, p.90-101, 2008.

DELIPERI, S.; BARDWELL, D.N.; PAPATHANASIOU, A. Effect of different polymerization methods on composite microleakage **Am J Dent**, v.16 Spec No, p.73A-76A, 2003.

ELY, C. **Caracterização da Cinética de Polimerização e Reatividade de Promotores de Polimerização para Aplicação em Resinas Fotoativadas à Base de Metacrilatos**. 2010. Dissertação de mestrado em Dentística – Universidade Federal de Pelotas, 2010.

JUNIOR, J.G. Materiais restauradores plásticos diretos. **Materiais Dentários o Essencial para o estudante e o clínico geral**. São Paulo: Santos, 1999. n.4, p.27-47.

MOSZNER, N.; SALZ, U.; ZIMMERMANN, J. Chemical aspects of self-etching enameldentin adhesives: A systematic review **Dent Mater**, v.21, n.10, p.895-910, 2005.

NAKABAYASHI, N.; TAKEYAMA M.; KOJIMA, K.; MASUHARA, E. [Studies on dental self-curing resins (20) – adhesion mechanism of 4-META/MMA-TBB resin to dentine

(author's transl)] **Shika Rikogaku Zasshi**, v.23, n.61, p.34-9, 1982.

REIS, A; LOGUERCIO, A.D; BITTENCOURT, D.D; GÓES M.F. Resinas Compostas. **Materiais Dentários Diretos dos Fundamentos à Aplicação Clínica**. São Paulo: Santos, 2007. n.5, p.137-180.

VAN NOORT, R. Estrutura dos polímeros. **Introdução aos Materiais Dentários**. Porto Alegre: Artmed, 2004. n.1.5, p.44-54.

TOCHOWICZ, A; MASKOS, K; HUBER, R; OLTENFREITER, R; DIVE, V; YIOTAKIS, A; ZANDA, M; BODE,W; GOETTIG, P. Crystal Structures of MMP-9 Complexes with Five Inhibitors: Contribution of the Flexible Arg424 Side-chain to Selectivity. **J. Mol. Biol.** V.371, n.4, p.989–1006, 2007.