

AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE DIFERENTES FOTOINICIADORES ISOLADOS E INCORPORADOS EM UMA RESINA ADESIVA MODELO

**SUZANNE MENDES DE ALMEIDA¹; CARINE TAIS WELTER MEEREIS²;
FERNANDA BARBOSA LEAL³; RODRIGO VARELLA DE CARVALHO⁴; LUIZ
ALEXANDRE CHISINI⁵; MARCUS MUNIZ CONDE⁶; FABRÍCIO AULO OGLIARI⁷**

¹Universidade Federal de Pelotas – suzannemalmeida@yahoo.com.br; ²Universidade Federal de Pelotas – carinemeereis@gmail.com; ³Universidade Federal de Pelotas – fernandableal@gmail.com;

⁴Universidade Federal de Pelotas – rodrigo.varella@gmail.com; ⁵Universidade Federal de Pelotas – luizalexandrechisini@hotmail.com; ⁶Universidade Federal de Pelotas – marcusconde82@gmail.com;

⁷Universidade Federal de Pelotas – ogliari@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O sucesso clínico das restaurações diretas irá depender, dentre outros fatores, da efetividade e durabilidade da interface de união entre o sistema adesivo e o substrato dental (MARTINS et al., 2008). A longevidade da adesão está relacionada com a resistência mecânica e a degradação hidrolítica do polímero da camada adesiva, os quais são modulados pela efetividade da reação de polimerização promovida pelo sistema de iniciação (LEAL et al., 2012; MEEREIS et al., 2014). O sistema de iniciação além de promover um alto grau de conversão e taxa de polimerização, também deve ser biocompatível com o substrato dental, visto que são componentes estruturais da zona de interdifusão entre monômero resinoso e fibras colágenas (camada híbrida) (NAKABAYASHI et al., 1982).

O sistema de iniciação comumente utilizado em materiais odontológicos é composto pela canforoquinona (CQ) e pelo etil dimetilamino benzoato (EDAB). A CQ é ativada pela luz visível na faixa de absorção entre 450 e 500 nm, e requer um co-iniciador doador de elétrons, o EDAB, para iniciar a reação de polimerização. Embora este sistema de iniciação seja eficiente para promover a reação de polimerização, alguns estudos tem demonstrado que pode comprometer restaurações estéticas devido a intensa coloração amarelada (ALBUQUERQUE et al., 2013) e por apresentar efeitos citotóxicos (ATSUMI et al., 2001).

Diante disso, sistemas de iniciação alternativos têm sido investigados na tentativa de substituir ou atuar em conjunto com CQ/EDAB. O difeniliodônio hexafluorofosfato (DPIHFP), quando associado à CQ e EDAB, atua como catalizador da reação de polimerização, melhorando as propriedades mecânicas do polímero (OGLIARI et al., 2007) e estabilidade da adesão (LEAL et al., 2012). Os co-iniciadores 1,3-benzodioxola (BDO) e álcool piperonílico (AP) apresentam propriedades físico-mecânicas semelhantes ao EDAB, quando associados à CQ (LIMA et al., 2012). O 1,3-dietil-2-ácido tiobarbitúrico (TBA) também pode ser utilizado como um co-iniciador alternativo ao EDAB, visto que melhorou a reatividade e o grau de conversão de um adesivo modelo (MUNCHOW et al., 2013). Já os fotoiniciadores bisfenil óxido fosfínico (BAPO) e disfenil óxido fosfínico (TPO) além de não necessitarem de um co-iniciador, apresentam maior grau de conversão, taxa de polimerização, resistência mecânica e estabilidade de cor quando comparados ao sistema CQ/EDAB (ALBUQUERQUE et al., 2013; MEEREIS et al., 2014; SCHNEIDER et al., 2009).

Embora estes iniciadores demonstrem ser uma alternativa promissora ao sistema CQ/EDAB, não existem evidências na literatura em relação à citotoxicidade destes sistemas de iniciação alternativos. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a citotoxicidade de fotoiniciadores isolados e incorporados em uma resina adesiva modelo, relacionando ao grau de conversão e à taxa de polimerização.

2. METODOLOGIA

2.1. Reagentes e Formulação da Resina Modelo

Glicidildimetacrilato de bisfenol A (Bis-GMA), dimetacrilato de trietilenoglicol (TEGDMA) e CQ foram fornecidos por Esstech Inc. (Essington, PA, EUA). EDAB, DPIHFP, BAPO, BDO, AP e ATB foram adquiridos da Aldrich Chemical Co (Milwaukee, WI, EUA). TPO foi adquirido da BASF - Chemical Company (Charlotte, NC, EUA). Uma resina modelo foi formulada através da mistura de 50% de Bis-GMA e 50% de TEGDMA, em massa. A seguir, combinações entre os fotoiniciadores e co-iniciadores foram adicionados à resina modelo, definindo os grupos experimentais: CQ+EDAB; CQ+EDAB+DPIHFP; CQ+BPO; CQ+AP; CQ+TBA; BAPO; TPO.

Para a fotopolimerização, o fotopolimerizador *polywave* diodo emissor de luz (LED) Bluephase (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) com irradiância de 1000 mw/cm² foi utilizado.

2.2. Citotoxicidade

Foi avaliado a citotoxicidade dos fotoiniciadores isolados (concentrações: 25, 2,5 e 0,25 mM) e incorporados em uma resina adesiva (corpos de prova 5 x 1 mm). Células de fibroblastos de embriões de camundongos (3T3/NIH) foram semeados (2x10⁴ células por poço) em placas de 96 poços e incubados por 24h (37°C, 5% CO₂). Os materiais ficaram 24h em contato com as células e a citotoxicidade foi determinada pelo teste colorimétrico MTT (5 mg/mL de DMEM). O MTT ficou em contato com as células por 4 horas em estufa de CO₂, após retirou-se o conteúdo dos poços e colocou-se 200 µL de DMSO (5 min). Por último, a placa foi levada ao espectrofotômetro e lida em um comprimento de onda de 540 nm para a obtenção da absorbância. Os resultados foram submetidos a análise estatística de ANOVA duas vias e teste complementar de Tukey (p<0,05).

2.3. Cinética de polimerização

O grau de conversão (GC) e taxa de polimerização (Tp) foram avaliados com auxílio de um espectrofotômetro de infravermelho com Transformada de Fourier (RT-FTIR, Prestige-21; Shimadzu, Tóquio, Japão), equipado com dispositivo de refletância total atenuada, composto por um cristal horizontal de diamante. Um suporte foi acoplado ao espectrofotômetro, com padronização de uma distância de 5 mm entre a extremidade da unidade foto-ativadora e a amostra. As amostras (n=3) foram dispensadas diretamente sobre o cristal de diamante e fotoativadas durante 20 segundos. O monitoramento da reação de polimerização foi realizada pelo software IRsolution, em uma faixa espectral entre 1800 e 1500 cm⁻¹, resolução de 4 cm⁻¹ e velocidade de deslocamento de espelho de 2,8 mm/s. O GC, por segundo, foi calculado considerando a intensidade da vibração do tipo estiramento da dupla ligação carbono-carbono na frequência de 1635 cm⁻¹. A Tp foi calculada através dos dados de grau de conversão pelo parâmetro regressivo não linear de Hill.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

É possível observar na Fig. 1 (A) que o fotoiniciador isolado mais tóxico em todas as concentrações testadas foi o DPIHFP, seguido pelo AP e TBA. No entanto, quando avaliada a citotoxicidade dos fotoiniciadores incorporados em uma

resina modelo (Fig. 1 (B)) CQ+BDO, CQ+AP e CQ+TBA apresentaram maior citotoxicidade que os demais. A citotoxicidade está diretamente relacionada com a reação de polimerização e degradação hidrolítica do polímero, uma polimerização incompleta afeta as propriedades biológicas do material, apresentando um efeito citotóxico quando em contato com o tecido pulpar (DEMARCO et al., 2001).

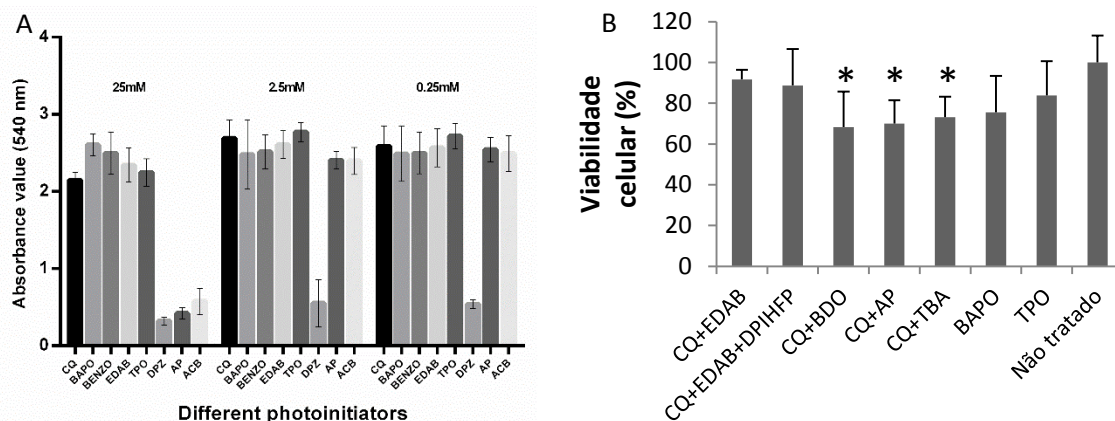


Figura 1. Citotoxicidade dos fotoiniciadores alternativos isolados (A) e incorporados em uma resina modelo (B).

Os valores médios do GC dos fotoiniciadores estão descritos na Fig. 2 (A). Após 20 s de fotoativação, o BAPO apresentou o maior GC (> 65%), seguido do fotoiniciador CQ+EDAB+DPIHFP (GC > 60%), CQ+EDAB e TPO (GC > 55%), os quais foram semelhantes entre si. Já os sistemas de iniciação CQ+BDO, CQ+AP e CQ+TBA apresentaram o menores valores de GC ($\leq 30\%$). Esse maior GC pode ser explicado pela sua absorção de luz, relacionada com o seu efeito sobre a polimerização da resina, que proporciona uma elevada eficiência de polimerização do compósito (ALBUQUERQUE et al., 2013). A Fig. 2 (B) apresenta os valores de Tp. O fotoiniciador BAPO apresentou a maior Tp, seguido pelos fotoiniciadores TPO, CQ+EDAB+DPIHFP, CQ+EDAB. Enquanto os demais apresentaram Tp similares e inferiores.

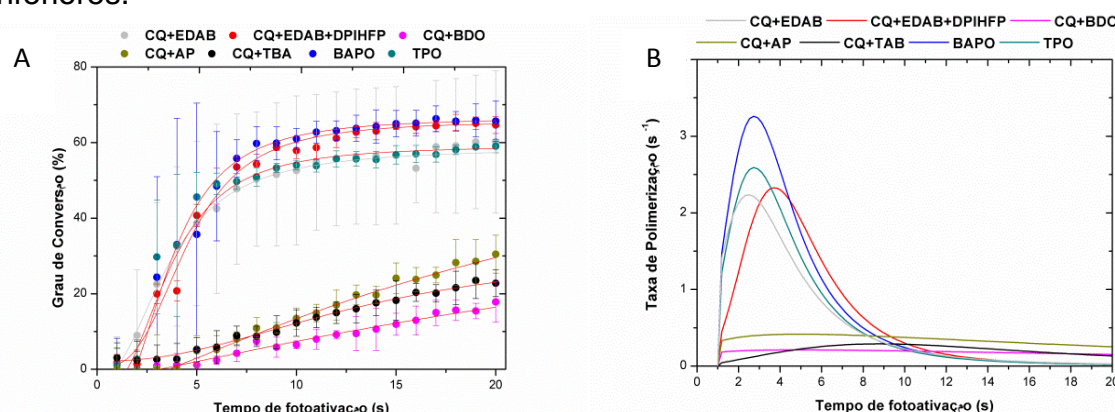


Figura 2. Grau de conversão (A) e taxa de polimerização (B) dos fotoiniciadores testados durante 20 segundos de fotoativação.

Os fotoiniciadores BAPO e TPO requerem uma emissão de luz em faixa de comprimento de onda diferente da requerida para CQ, o que sugere a necessidade de usar uma fonte de luz halógena ou fotopolimerizador com uma faixa espectral de emissão luz maior do que a emitida pelo LED tradicional (MEEREIS et al., 2014). Por

isso nesse estudo foi utilizado o fotopolimerizador *polywave* LED Bluephase que possui uma faixa de emissão de luz compreendida entre 380–515 nm, o qual é capaz de ativar tanto a CQ, que possui faixa de absorção de luz entre 400–500 nm, quando o BAPO e TPO que possuem faixa de absorção de luz entre 365–416 nm e 380–425 nm, respectivamente.

4. CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a citotoxicidade não está diretamente relacionada à citotoxicidade do fotoiniciador, mas sim com à sua capacidade de promover a reação de polimerização.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATSUMI, T.; IWAKURA, I.; FUJISAWA, S.; UEHA, T.; The production of reactive oxygen species by irradiated camphorquinone-related photosensitizers and their effect on cytotoxicity. **Arch Oral Biol**, v.46, n.5, p. 391–401, 2001.

MEEREIS CTW et al. BAPO as an alternative photoinitiator for the radical polymerization of dental resins. **Dent Mater**, 2014.

OGLIARI, FA; ELY, C; PETZHOLD, CL; DEMARCO, FF; PIVA, E; Onium salt improves the polymerization kinetics in an experimental dental adhesive resin. **Journal of Dentistry**, v.35, n.7, p.583-587, 2007.

SCHNEIDER, L.F.; et al. Alternative photoinitiator system reduces the rate of stress development without compromising the final properties of the dental composite. **Dental Materials**, v.25, n.5, p.566–72, 2009.

ALBUQUERQUE, P.P; et. al. Color stability, conversion, water sorption and solubility of dental composites formulated with different photoinitiator systems. **Journal of Dentistry** v.41, n.3, p.67-72, 2013.

LIMA, G. S; et. al. Benzodioxoles as Alternative Coinitiators for Radical Polymerization in a Model-Dental Adhesive Resin. **Journal of Applied Polymer Science** v. 127, n.5, p.4160-4167, 2012.

MUNCHOW, E. A; et. al. 1,3-Diethyl-2-thiobarbituric acid as an alternative coinitor for acidic photopolymerizable dental materials. **Journal of Biomed Mater Res Part B: Apple Biomater** v. 101, n.7, p. 1217-1221, 2013.

MARTINS, G.C; et al. Adesivos dentinários. **Rev.gaúcha Odontol**, v. 56, n.4, p. 429-436, out/dez 2008.

NAKABAYASHI, N; KOJIMA, K; MASUHARA, E; The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. **J Biomed Mater Res**. v.16, n.3, May 1982.

LEAL, F.B.; LIMA G.S.; COLLARES, F.M.; SAMUEL, S.M.; PETZHOLD, C>L.; PIVA, E.; Iodonium salt improves the dentin bonding performance in an experimental dental adhesive resin. **International Journal of Adhesion and Adhesives** v. 38, p. 1-4, 2012.

DEMARCO FF, TARQUINIO SB, JAEGER MM, DE ARAUJO VC, MATSON E. Pulp response and cytotoxicity evaluation of 2 dentin bonding agents. **Quintessence Int** v.32, n.3, p. 211-220, 2001.