

## CITOTOXIDADE DE TRÊS SISTEMAS ADESIVOS AUTOCONDICIONANTES.

**RIBEIRO, Juliana**<sup>1</sup>; PERALTA, Sonia Luque<sup>2</sup>; VALENTE, Lisia Lorea<sup>2</sup>; PIVA, Evandro<sup>3</sup>; LUND, Rafael Guerra<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Acadêmica do curso de Graduação em Odontologia UFPel; <sup>2</sup> Acadêmica do curso de Pós-graduação em Odontologia (PPGO)-UFPel. <sup>3</sup> Professor da Faculdade de Odontologia de Pelotas (FOP)-UFPel;

<sup>4</sup> Orientador e professor da FOP-UFPel.

jujusilvaribeiro@gmail.com

### 1 INTRODUÇÃO

Os sistemas adesivos são materiais poliméricos, de composição complexa, que geralmente apresentam em sua composição: HEMA (2-hidroxietil metacrilato), TEGDMA (triétileno glicol dimetacrilato), entre outros monômeros, fotoiniciadores, solventes e aditivos (MOSZNER et al. 2005). Os adesivos se apresentam disponíveis no mercado em duas versões: os convencionais e os autocondicionantes, sendo estes últimos os mais modernos. Estes se diferenciam dos tradicionais por que não requerem a etapa de condicionamento ácido no procedimento adesivo, visto que apresentam monômeros ácidos na sua formulação. Os adesivos autocondicionantes promovem a desmineralização dentinária e a infiltração simultaneamente. A capacidade de dissolução da smear layer e desmineralização da dentina subjacente tem sido relacionada com o seu pH (PERDIGÃO, 2007).

No entanto, há poucos estudos sobre a citotoxicidade dos sistemas adesivos autocondicionantes. A avaliação da citotoxicidade é um pré-requisito para a avaliação de biocompatibilidade dos materiais. Sendo assim, a avaliação da citotoxicidade se torna imprescindível se considerarmos que os adesivos vão ficar em contato com a dentina vital e o tecido pulpar (DEMIRCI et al., 2008). Os principais fatores de agressão ao tecido pulpar após a restauração apontado por Hanks (1991) foram a liberação de componentes oriundos dos materiais restauradores ou forradores em contato direto ou indireto com a polpa e a presença de microrganismos viáveis nas margens das restaurações.

O objetivo deste estudo foi avaliar a citotoxicidade dos *primers* e *bonds* de três sistemas adesivos autocondicionantes em diferentes concentrações.

### 2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

#### 2.1 Diluições dos *Primers* e *Bonds*

Foram utilizados neste estudo três produtos de marcas comerciais: Clearfil Protect Bond/Kuraray (CPB), Clearfil Se Bond/Kuraray (CSEB), e Adper SE Plus/3M ESPE (AP).

Cada produto, na sua forma pura (*primers* e *bonds*), foram diluídos em meio essencial de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM). Diluições seriadas foram preparadas nas concentrações de 5; 2,5; 1,3 e 0,7 µg/mL para os *primers* e de 10; 5; 2,5 e 1,3 µg/mL para os *bonds*.

#### 2.2 Cultivo celular

O meio de cultivo celular utilizado foi o DMEM com suplemento de 10% de soro fetal bovino, 1% de solução de penicilina 10.000u/mL e estreptomicina 10.000µg/mL. A linhagem imortalizada de fibroblastos 3T3/NIH utilizada para o ensaio foi suspendida em meio de cultura DMEM e incubada em estufa a 37°C.

### 2.3 Ensaio de citotoxicidade (MTT)

A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio colorimétrico MTT, que se baseia na capacidade das células viáveis reduzirem metabolicamente o sal de MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazólio), por meio da enzima mitocondrial desidrogenase succínica, em cristais de formazan de cor azul-púrpura que se acumula no citoplasma celular. Em placas de 96 poços, foram colocadas  $1 \times 10^4$  células suspendidas em 200µL DMEM por poço. A placa foi incubada (37°C, 5% de CO<sub>2</sub>) por um período de 24 h. Após esse período, os meios foram aspirados e as células lavadas com PBS para logo serem colocados os produtos teste, sendo armazenados por 24h em estufa a 37°C permitindo que produtos atuassem na monocamada celular.

Após 24 h, o meio com os produtos teste de cada poço foram aspirados. Foi preparada uma solução de MTT que foi adicionada a cada poço e incubados novamente por 6h de forma a permitir o metabolismo do MTT. Passado o período, o meio foi sugado e os cristais de formazan ressuspendidos em 200 µl de dimetil sulfóxido (DMSO).

Os resultados foram lidos em um espectrofotômetro com um comprimento de onda de 560 nm, onde foram considerados os valores de absorbância como indicador da viabilidade celular (KOULAOUZIDOU, 2009; FERNÁNDEZ, 2010).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios foram realizados em quadruplicata e repetidos em tempos diferentes. Os resultados foram analisados no Programa Sigma Stat, os testes estatísticos aplicados foram Kruskal Wallis e como complementar Tukey.

A Fig. 1 mostra a avaliação dos *primers*. Quando analisadas as concentrações de 5; 2,5 e 1,3µg/ml, observa-se que o primer mais tóxico foi o do CPB e o menos tóxico o do AP. Já na menor concentração testada (0,7µg/ml), não houve diferença estatística entre os *primers* testados. Quando cada material, foi avaliado isoladamente nas diversas concentrações, não houve diferença estatística entre as diferentes concentrações do AP, e nos outros materiais testados as concentrações avaliadas não foram proporcionais à viabilidade celular.

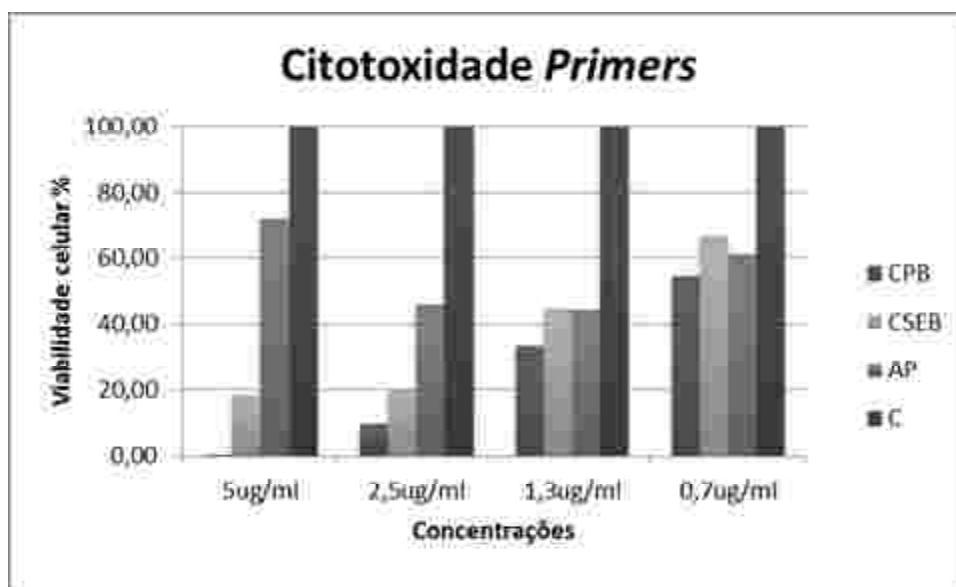


Figura 1. Citotoxicidade dos *Primers*.

Na avaliação dos *bonds*, em todas as concentrações, as três marcas comerciais foram estatisticamente similares. Quando avaliados isoladamente, cada material nas diferentes concentrações, houve diferença estatística significativa entre nas concentrações de 10 e 1,3 µg/mL conforme demonstrado na Fig. 2.

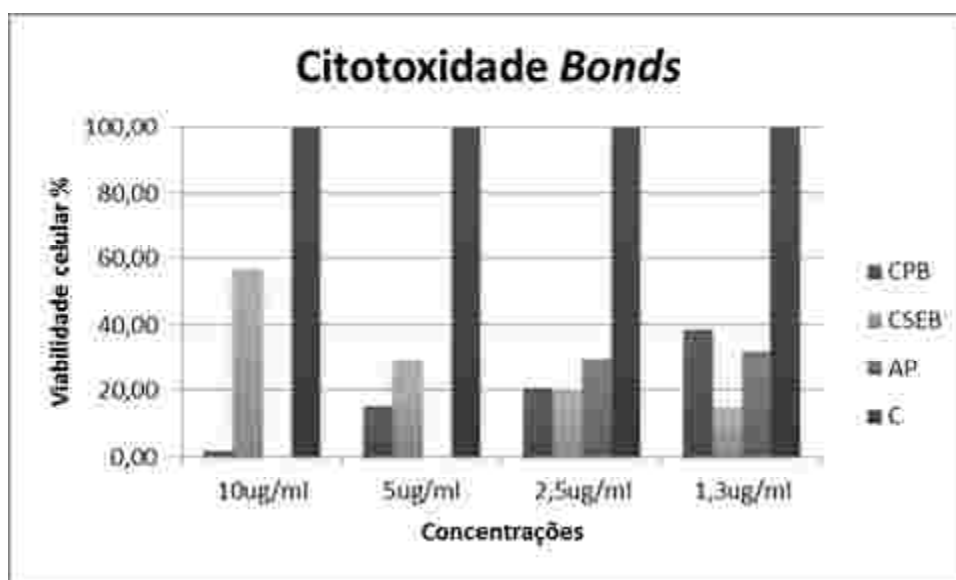


Figura 2. Citotoxicidade dos *Bonds*

O presente estudo é importante porque não se tem estudos publicados que avaliem a citotoxicidade do Adper SE Plus, o que o torna inédito. Existem diversos estudos que avaliam a citotoxicidade dos sistemas adesivos (KOULAOUZIDOU, 2005), mas são poucos os estudos que avaliam os sistemas adesivos em forma pura os componentes do sistema adesivo separadamente (*primer* e *bond*) (GROBLER 2008).

No presente estudo foram avaliados os *primers* e os *bonds* em diferentes concentrações, pois em um estudo piloto prévio observou-se que o *primer* na concentração de 10µg/ml apresentou morte celular.

O primer do CPB e o CSEB só diferem entre si por que o CPB apresenta um monômero antibacteriano (VAN LANDUYT et al., 2007) Diversos estudos têm mostrado que o Clearfil Protect Bond tem fortes efeitos antimicrobianos contra *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* e *Actinomyces* (IMAZATO, 1999; TURKUN, 2005) e também tem apresentado boas propriedades mecânicas.

O efeito antimicrobiano também pode estar relacionado com a citotoxicidade. Os resultados encontrados no presente estudo são similares aos encontrados por DEMIRCI (2008) e GROBLER (2008). Por outro lado, os resultados encontrados são diferentes aos reportados por KOULAOUZIDOU, (2005), visto que neste estudo foram avaliados os eludatos.

Com relação aos *bonds*, o Adper SE Plus apresentou maior efeito citotóxico. Isto pode ser explicado por ele possuir na sua composição o UDMA, diferentemente dos outros dois sistemas adesivos. Além disso, diversos estudos *in vitro* revelam que o Bis-GMA e o UDMA são fortemente tóxicos, seguidos pelo HEMA e TEGDMA (RATANASATHIENI, 1995; GEURTSSEN, 1998;).

#### 4 CONCLUSÃO

Os três sistemas adesivos avaliados apresentaram uma diminuição da viabilidade celular. O *bond* do Adper SE plus e o *primer* do Clearfil Protect Bond apresentaram maior citotoxicidade.

#### 5 REFERÊNCIAS

DEMIRCI M.; HILLER K.A.; BOSL C.; GALLER K.; SCHMALZ G.; SCHWEIKL H. The induction of oxidative stress, cytotoxicity, and genotoxicity by dental adhesives. **Dental Materials**, v.24, p.362-371, 2008.

FERNÁNDEZ, M.R.; CARVALHO, R.V.; OGLIARI, F.A.; BEIRA, F.A.; A. ETGES, A.; BUENO, M. Cytotoxicity and genotoxicity of sodium percarbonate: a comparison with bleaching agents commonly used in discoloured pulpless teeth, **International Endodontic Journal**, v.43, p.102-108, 2010.

GEURTSSEN W, LEHMANN F, SPAHL W, LEYHAUSEN G. Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives permanent 3T3 and three human primary fibroblast cultures. **J Biomed Mater Res**, v 41, p. 474–480, 1998.

GROBLER SR, OLIVER A, MOODLEY D, VAN WYK KOTZE TJ. Cytotoxicity of recent dentin bonding agents on mouse fibroblast cells. **Quintessence Int**, v 39 p.511-517, 2008.

HANKS CT, STRAWN SE, WATAHA JC, CRAIG RG. Cytotoxic effects of resin components on cultured mammalian fibroblasts. **J Dent Res**, v 70 p.1450-1455, 1991.

IMAZATO S, EBI N, TARUMI H, RUSSEL RRB, KANEKO T, EBISU S. Bactericidal activity and cytotoxicity of antibacterial monomer MDPB. **Biomaterials**, v 20 p.899–903,1999.

KOULAOUZIDOU EA, HELVATJOGLU-ANTONIADES M, PALAGHIAS G, KARANIKA-KOUMA A, ANTONIADES D.J; Cytotoxicity evaluation of an antibacterial dentin adhesive system on established cell lines. **Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater**, v 84 p.271-6, 2008.

MOSZNER N, SALZ U, ZIMMERMANN J. Chemical aspects of self-etching enamel-dentin adhesives: a systematic review. **Dent Mater**, v 21p.895-910, 2005.

PERDIGÃO J. New developments in dental adhesion. **Dent Clin North Am**, v 51p.333-57, 2007.

RATANASATHIEN S, WATAHA JC, HANKS CT, DENNISON JB. Cytotoxic interactive effects of dentin bonding components on mouse fibroblasts. **J Dent Res**, v 74 p.1602–6, 1995.

TURKUN LS, ATES M, TURKUN M, UZER E. Antibacterial activity of two adhesive systems using various microbiological methods. **J Adhes Dent**, v 7 p.315–320,2005.

KOULAOUZIDOU EA, HELVATJOGLU-ANTONIADES M, PALAGHIAS G, KARANIKA-KOUMA A, ANTONIADES D.J; Cytotoxicity evaluation of an antibacterial dentin adhesive system on established cell lines. **Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater**, v 84 p.271-6, 2008.

VAN LANDUYT KL, SNAUWAERT J, DE MUNCK J, PEUMANS M, YOSHIDA Y AND POITEVIN A et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. **Biomaterials**, v 28 p.3757–3785, 2007.