

Evaluación de Citotoxicidad y Conversión del Monómero de Cuatro Adhesivos Ortodónticos

Evaluation of Cytotoxicity and Monomer Conversion of Four Orthodontic Adhesives

Matheus Melo Pithon^{*}; Rogério Lacerda dos Santos^{*}; Fernanda Otaviano Martins^{**};
Maria Teresa Villela Romanos^{***} & Mônica Tirre de Souza Araújo^{****}

PITHON, M. M.; DOS SANTOS, L. R.; MARTINS, O. F.; ROMANOS, V. M. T. & ARAÚJO, S. M. T. Evaluación de citotoxicidad y conversión del monómero de cuatro adhesivos ortodónticos. *Int. J. Odontostomat.*, 3(2):91-98, 2009.

RESUMEN: El objetivo de este trabajo fue evaluar la citotoxicidad y el grado de conversión del monómero de adhesivos ortodónticos. Para esto se evaluaron tres adhesivos: Transbond XT (3M Unitek, Monrovia, EE.UU.), Fill Magic Ortodóntico (Vigodent, Río de Janeiro, Brasil) y Orthobond (Morelli, Sorocaba, Brasil), en cuanto a la citotoxicidad en células fibroblastocitos L929 y al grado conversión del monómero. Tres grupos de control también participaron de control positivo (C+) conformado por detergente celular Tween 80, un control negativo (C-) PBS, y el control celular (CC) donde células no fueron expuestas a ningún tipo de material. Para evaluar la citotoxicidad se utilizó la técnica "dye-uptake", que consiste en la incorporación de tinte rojo neutro por células viables, y para evaluar el grado de conversión la espectroscopia infrarroja. Los resultados mostraron citotoxicidad de todos los adhesivos evaluados. Los valores de viabilidad celular producido por estos materiales fueron estadísticamente diferentes en grupos de CC y C-($p < 0,05$). En lo que respecta al grado de conversión, hubo diferencias estadísticas entre los materiales evaluados ($p < 0,05$). Se puede concluir con la realización a este trabajo que todos los adhesivos son citotóxicos en el período de evaluación. La citotoxicidad se relaciona directamente con el grado de conversión de adhesivo evaluado

PALABRAS CLAVE: resinas compuestas, pruebas inmunológicas de citotoxicidad, Bisfenol A Glicidil Metacrilato.

INTRODUCCIÓN

Hasta los años 70, la fijación de los accesorios para ortodoncia al diente era con bandas en todos los dientes. Según Zachrisson (1985), muchas eran las desventajas de este procedimiento como: dificultad de limpieza, complejidad, duración de su rendimiento clínico, comprometimiento estético, entre otros. Así pues, la técnica de contacto directo de los accesorios ortodónticos fue un avance fundamental para el desarrollo, la facilitación y expansión de Ortodoncia. La técnica de unión directa sólo es posible con la llegada de grabado ácido de esmalte del diente descrito por Michael Buonocore (1955), haciendo que la unión de los braquets sea rutina en el tratamiento con aparatología fija.

Según Nordenvall (1978), esta técnica tiene grandes ventajas para la Ortodoncia, entre ellas, la no interferencia en el contacto proximal (Boyd & Baumrind, 1992) la fácil adhesión y remoción de accesorios, reduciendo el tiempo clínico, la estética, la higiene y la menor irritación de la encía (Boyd & Baumrind; Hobson *et al.*, 2001).

Actualmente, la amplia variedad de materiales indicados para la adhesión de braquets ortodónticos a esmalte dentario, y el conocimiento de los materiales utilizados es de fundamental importancia para su uso clínico. Entre estos materiales se destacan los

^{*} Especialista en Ortodoncia por la Universidade Federal de Alfenas - Unifal; Magister en Ortodoncia por la Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ; Doctorando en Ortodoncia en la Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Brasil.

^{**} Graduado de Microbiología e Inmunología por la Universidade Federal do Rio de Janeiro; Estagiaria del Instituto de Microbiología Prof. Paulo de Góes - UFRJ, Brasil.

^{***} Doctora en Ciências (Microbiología e Inmunología) por la Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ; Profesora Adjunta de la Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Brasil.

^{****} Doctora en Ortodoncia por la Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ; Profesora Adjunta de Ortodoncia de la Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Brasil.

composites, que poseen características tales como buena resistencia, dureza y estabilidad dimensional (Gorelik, 1977).

Los composites se componen básicamente de un monómero multifuncional de cadena larga que cuando polimeriza se convierte en una red tridimensional de uniones cruzadas. El monómero de Dimetacrilato de Bisfenol A-Bis-Glicidila (BisGMA) es el monómero más utilizado en odontología y se caracteriza por una larga y rígida cadena de moléculas de carbono con dobles enlaces reactivos en ambos extremos (Peutzfeldt, 1997).

El proceso de polimerización es una peculiaridad a considerar, como en el caso de compuestos fotopolimerizables, este procedimiento puede influir en las propiedades mecánicas, y afectan a la biocompatibilidad de los materiales de resina compuesta con tejidos orales (Eliades *et al.*, 1995). Para iniciar la reacción de polimerización se requiere la exposición suficiente del material a la luz, y el compromiso de tal proceso puede afectar significativamente el número de radicales libres formados y, por consiguiente, la polimerización del material (Peutzfeldt). En este contexto, la evaluación del grado de conversión (DC) es esencial porque permite establecer una correlación entre de la DC y la estructura química final del material polimérico (Eliades *et al.*, 2000).

El grado de conversión es una medida del porcentaje de dobles enlaces entre los carbonos que se convierten en enlaces simples debido al procedimiento de polimerización. Los niveles conversión alcanzados durante la polimerización influyen directamente en las propiedades físicas, mecánicas y biológicas del material (Dewald & Ferracane, 1987).

A partir de esta premisa, el objetivo del presente artículo fue evaluar la citotoxicidad y el grado de conversión de los adhesivos de ortodoncia, además de verificar la existencia de correlación entre el grado de conversión y de la citotoxicidad de estos materiales.

MATERIAL Y MÉTODO

Cultivo celular. La línea celular utilizada fue la Fibroblastocitos L929 obtenida de American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD) (fibroblastocitos de ratón) cultivadas en medio mínimo esencial de Eagle (MEM) (Cultilab, Campinas, São

Paulo, Brasil), complementado con 2 mM de L-glutamina (Sigma, St. Louis, Missouri, EE.UU.), 50 mg/ml de gentamicina (Schering Plough, Kenilworth, Nueva Jersey, EE.UU.), 2,5 mg/ml fungizona (Bristol-Myers-Squibb, Nueva York, EE.UU.), 0,25 ml de solución de bicarbonato de sodio (Merck, Darmstadt, Alemania), 10 mM de HEPES (Sigma, St. Louis, Missouri, EE.UU.) y 10% de suero bovino fetal (SFB) (Cultilab, Campinas, São Paulo, Brasil), mantenida a 37 °C en un ambiente que contenga un 5% de CO₂.

Adhesivos Evaluados. La muestra constaba de tres adhesivos de uso de ortodóntico: Transbond XT (3M Unitek, Monrovia, EE.UU.), Fill Magic ortodóntico (Vigodent, Río de Janeiro, Brasil) y Orthobond (Morelli, Sorocaba, Brasil) (Tabla I).

Confección de los cuerpos de prueba. Para la preparación y normalización de los cuerpos de prueba fueron utilizadas matrices de acero inoxidable bipartidas, de 5mm de diámetro y 2 mm de espesor (Fig. 1a).

La matriz de metal fue posicionada en una lámina de vidrio (Fig. 1b), seguido por el alojamiento de los adhesivos utilizando una espátula de plástico (Fig. 1c). Una vez realizado el llenado de la matriz (Fig. 1d), una nueva capa de vidrio se colocó en la parte superior (Fig. 1e), seguido por la colocación de peso para mantener la presión constante (Fig. 1f), para la posterior fotopolimerización del material (Fig. 1g).

La fotopolimerización se realizó durante 40 segundos, fijando los aparatos fotopolimerizadores en una base para normalizar la distancia entre la luz y los especímenes. El dispositivo utilizado fue Radii (SDI, Victoria, Australia), con intensidad de luz de 1400 mw/cm³, medida con radiómetro (Demetron, Danbury, CT, EE.UU.).

Realizada la fotopolimerización, los cuerpos de prueba fueron removidos de las matrices y parte de ellos surgieron en el medio de cultivo, a fin de evaluar la citotoxicidad (n=30), y los demás para la evaluación del grado de conversión de monómeros (n=5).

Controles. Para verificar la respuesta celular frente a los extremos, otros tres grupos fueron incluidos, grupo CC (control celular) en el cual las células no fueron expuestas a ningún material, el grupo C+ (control positivo) constituido en un detergente Tween 80 (Polioxietileno-20-Sorbitol) a 10% C-(control negativo) solución de PBS (Fosfato-bufferizado Salino) al 100%.

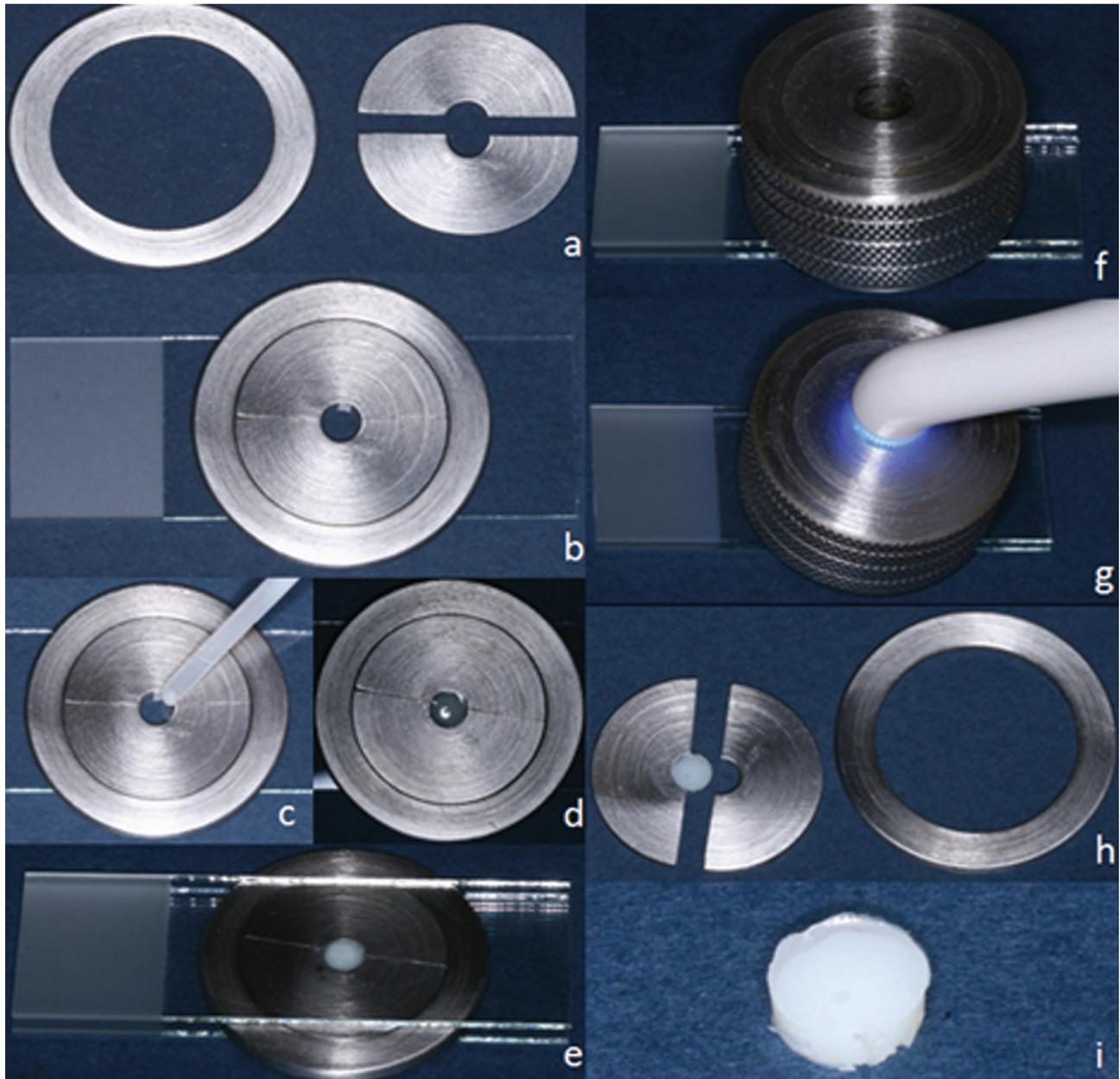


Figura 1. a. Matriz utilizada para confección de los cuerpos de prueba; b. matriz posicionada sobre lámina de vidrio; c. inserción del composite en el interior de la matriz; d. composite insertado; e. lámina de vidrio sobre la matriz; f. peso sobre a lámina de vidrio manteniendo presión constante; g. fotopolimerización; h. separación de la matriz post fotopolimerización; i. cuerpo de prueba confeccionado.

Ensayo de citotoxicidad de los materiales. Los materiales fueron previamente esterilizados por exposición a luz U.V. (Labconco, Kansas, Missouri, USA) durante 1 hora. Luego, las muestras de cada material fueron colocadas en placas de 24 pocillos conteniendo medio de cultivo (MEM) (Cultilab, Campinas, São Paulo, Brasil). Después de 24 horas de contacto con el medio de cultivo, los sobrenadantes fueron recogidos para proseguir con su evaluación en cuanto a la

toxicidad para las células L929. Los sobrenadantes fueron colocados por triplicado en una placa de 96 pocillos que contienen monocapa confluyente de L929 e incubados durante 24 horas a 37 °C en un medio con 5% de CO₂. Terminado el tiempo de incubación, el efecto sobre la viabilidad celular fue determinado por la técnica "dye-uptake", descrito por (Neyndorff *et al.*, 1990). Después de 24 horas de incubación, se añadieron 100 ml de rojo neutro al 0,01% (Sigma, St. Louis,

Missouri, USA) en el medio de cultivo, en cada pocillo de las microplacas y estas fueron incubadas a 37°C durante 3 horas para la penetración del colorante en las células vivas. Pasado este período, después de descartar el tinte, fueron adicionados 100 ml de solución de formaldehído (Reagen, Río de Janeiro, Brasil) al 4% en PBS (NaCl 130 mM, KCl 2 mM, Na₂HPO₄ 2H₂O 6 mM, K₂HPO₄ 1mM, PH7, 2) durante 5 minutos para promover la adhesión de células a las placas. Luego, para la extracción del colorante, fue añadido 100 ml de una solución de ácido acético (Vetec, Río de Janeiro, Brasil), al 1% con metanol (Reagen, Río de Janeiro, Brasil) al 50%. Después de 20 minutos la lectura se realizó en el espectrofotómetro (BioTek, Winooski, Vermont, USA) en una longitud de onda de 492nm.

Grado de Conversión. Después de la polimerización, los cuerpos de prueba (n=5) fueron triturados para la obtención de un polvo, que posteriormente fue mezclado con bromuro de potasio (KBr), a una proporción de 1/20. El polvo resultante fue puesto en un pastillador y llevado a una prensa con carga de alrededor de 8 toneladas, para la obtención de una pastilla. Se utilizó el espectrofotómetro FT-IR (Bomen-modelo MB-102, Quebec, Canadá) que realiza mediciones de los es-

pectros de infrarrojo utilizando el método por transformaciones de Fourier (FTIR) para determinación porcentual del grado de conversión (GC) de los monómeros en polímero.

Para este estudio fue utilizada la siguiente ecuación:

$$GC = 1 - \frac{\text{Área de banda C=O (polímero)}}{\text{Área de banda C=C (monomero)}} \times 100$$

En el doble enlace carbono-carbono alifáticos (alifáticos C=C) posee la característica de absorción del infrarrojo en torno a 1638 cm⁻¹, mientras que el carbono-oxígeno doble enlace (C=O) tiene un valor de absorción a 1731 cm⁻¹.

Análisis estadístico. El análisis estadístico se realizó utilizando el programa SPSS 13.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois). El análisis estadístico descriptivo incluyendo media y desviación estándar se calcularon para los grupos evaluados. Los valores de la cantidad de células viables y el grado de conversión, fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) para determinar si había diferencias estadísticas entre los grupos y, a continuación, la prueba de Tukey.

Tabla I. Materiales de prueba con sus respectivos fabricantes, la presentación, la composición y el lote de fabricación.

Materiales Evaluados	Fabricante	Presentación	Composición	Lote
Transbond XT	(3M Unitek, Morovia, USA)	Bisnaga	Bis-GMA (Bisfenol A Glicidil Metacrilato), Bis-EMA (Bisfenol-A-Etoxil de Dimetacrilato), micropartículas de cuarzo (de carga / peso) y canforoquinona.	7BU/8EX
Fill Magic Ortodóntico	(Vigodent, Rio de Janeiro, Brasil)	Bisnaga	Bisgma Éster de ác. Metacrílico Vidrio de flúor silicato (carga) y vidrio de flúor silicato	001/08
Orthobond	(Morelli, Sorocaba, Brasil)	Bisnaga	BIS-GMA- Dimetacrilato Glicerolato de Bisfenol A, TEG-DMA- Dimetacrilato de Trietileno Glicol, HEMA-2 – Hidroxil-etil-metacrilato, Canforquinona, Hidroxitolueno Butilado, Ácido Dimetilol Propiónico, Dimetilaminobenzoato, Dipheniliodoniun Hexafluotophosphate, Dimetil Amino Etil Metacrilato y Dióxido de Silício	1134722

RESULTADOS

Los resultados de la citotoxicidad de los materiales evaluados se muestran en la Tabla II. Los valores del grado de conversión entre los adhesivos evaluados se describen en la Tabla III.

DISCUSIÓN

El uso de cultivos celulares se ha utilizado como parte de una serie de pruebas recomendadas para evaluar el comportamiento biológico de los materiales a ser puesto en contacto con el tejido humano (Estrela,

Tabla II. Valores medios de células, patrón desviación estándar, viabilidad celular y análisis estadístico de los grupos estudiados. DP= patrón de desviación; V. Cel= porcentaje de células viables; Estadística= letras iguales significan ausencia de diferencias estadísticas entre los grupo evaluados.

Grupos	Media (DP)	V. Cel (%)	Estadística
Transbond XT	99,44 (31,16)	12,66	AD
Fill Mágic	245,88 (36,26)	31,32	BC
Orthobond	165,11 (129,37)	21,03	AC
C+	72,66 (7,36)	9,25	D
C-	773,55 (21,37)	98,49	E
CC	785,33 (41,77)	100,00	E

Tabla III. Valores medios y patrón de desviación del grado de conversión de los materiales evaluados en un período de 24 horas (n=5). Estadística= letras iguales significan ausencia de diferencias estadísticas entre los grupo evaluados.

Materiales Evaluados	Media	Desviación Estándar	Estadística
Transbond XT	44,85	0,89	A
Fill Mágic	65,18	0,78	B
Orthobond	53,11	0,65	C

2005; Jorge *et al.*, 2004; Santos *et al.*, 2008). En este estudio, se realizaron pruebas de citotoxicidad, utilizando la línea celular L929 (fibroblastocitos de ratón), ampliamente utilizado en el trabajo que tiene por objeto evaluar la citotoxicidad de los materiales de uso odontológico (Alcaide *et al.*, 2008; Donadio *et al.*, 2008; Feizzadeh *et al.*, 2008; Franz *et al.*, 2009; Jin *et al.*, 2008).

El método utilizado para evaluar la viabilidad celular fue con una utilización de rojo neutro. El procedimiento de análisis de rojo neutro es una prueba de sobrevivencia/viabilidad celular, sobre la base de la capacidad de las células vivas para incorporar y combinar el rojo neutro dentro de los lisosomas. Por lo general, es realizado en células adherentes. El rojo neutro es un colorante catiónico débil que penetra fácilmente la membrana de la célula y se acumula intracelularmente en los lisosomas (lisosomas pH <pH citoplasmático), donde se combina con la parte aniónica de la matriz lisosómica (Griffon *et al.*, 1995). Los cambios de la superficie celular o de la delicada

membrana lisosómica, lleva a la fragilidad de lisosomas y otros cambios que poco a poco llegan a ser irreversible. Tales cambios ocurridos por la acción de xenobióticos resultan en una disminución de la absorción y combinación de rojo neutro. Por lo tanto, es posible distinguir células viables, dañadas o muertas, en lo que se basa la prueba. La cantidad de colorante incorporado en las células se mide por espectrometría, y es directamente proporcional al número de células con membrana intacta.

Mediante la metodología utilizada se encontró que 24 horas después de la polimerización todos los materiales mostraban ser citotóxicos, con mayor citotoxicidad presentada por Transbond XT seguido de Orthobond y Fill Magic Ortodóntico. La citotoxicidad presentada por Transbond fue estadísticamente similar a la amalgama, utilizado con el fin de dañar al mayor número de células, un resultado que confirma Jagdishia *et al.* (2009), cuando probó el Transbond XT Unite, Heliosit y GC Fuji ORTHO LC.

Con el fin de encontrar respuestas a los resultados de citotoxicidad, se evaluó en conjunto, el grado de conversión de los monómeros del adhesivo.

Diferentes métodos pueden ser empleados para la verificación del grado de conversión de los materiales poliméricos. El análisis térmico diferencial (DTA), a resonancia magnética, determinación de las resistencias magnéticas y espectroscopia con infrarrojo.

La espectroscopía con infrarrojo es el método más frecuentemente utilizado para medir el grado de conversión por ser capaz de cuantificar directamente los grupos de metacrilatos que no reaccionaron del material (Franz *et al.*). En virtud de eso este método fue escogido para la presente realización.

Como fue descrito por Wan *et al.* (1999), los discos de adhesivos fueron pulverizados y transformados en discos nuevamente con sal de bromuro de potasio (KBr). La proporción por peso para a mezcla adhesivo-KBr utilizada fue de 1:20. El KBr es una sal altamente purificada y es mezclada con un material por ser una sustancia inerte al infrarrojo (transparente al infrarrojo), no introduciendo ninguna línea en el espectro de la muestra.

Los adhesivos ortodónticos aquí utilizados poseen como principal componente monomérico al Bis-GMA. La fórmula química de Bisfenol-A-glicidil metacrilato (Bis-GMA) tiene dos anillos aromáticos y por lo tanto posee un doble enlace carbono-carbono alifático (cadena abierta) y un enlace aromático. Debido a esto fue utilizado el pick analítico de 1638 cm^{-1} de la doble enlace alifático y el pick de patrón interno, es decir, no cambian durante la reacción, el 1608 cm^{-1}

de los dobles enlaces presentes en el anillo aromático, tal como se utiliza en el trabajo anteriormente (Cunha *et al.*, 2009; Shin & Rawls, 2009).

Las cifras presentadas sobre el punto de vista de conversión de monómeros, viene a comprobar los encontrados en la prueba de citotoxicidad, lo que demuestra la importancia real de los monómeros residuales en la viabilidad celular, ya que el Transbond XT se demostró que el mayor y menor grado de citotoxicidad conversión de los monómeros. Esta relación fue vista por Jagdishia *et al.*, en la evaluación de los composites Heliolit de Fase II.

Las diferencias en los valores de conversión obtenidos para las diferentes resinas compuestas se han atribuido a las variaciones en la composición, lo que se refiere a los sistemas de monoméricos, concentración de los diluyentes, el tipo y la cantidad de partículas de carga, y concentración de los iniciadores. Además, los materiales utilizados en este estudio, el número de iniciadores y monómeros, así como el tamaño de las partículas inorgánicas en la composición de las resinas, justifican los límites de los resultados obtenidos.

CONCLUSIONES

Se puede concluir con la realización de este trabajo que en un período de 24 horas después de la polimerización todos los adhesivos evaluados fueron citotóxicos; y que existe una relación directa entre la cantidad de monómeros residuales con la citotoxicidad mostrada por los materiales.

PITHON, M. M.; DOS SANTOS, L. R.; MARTINS, O. F.; ROMANOS, V. M. T. & ARAÚJO, S. M. T. Evaluation of cytotoxicity and monomer conversion of four orthodontic adhesives. *Int. J. Odontostomat.*, 3(2):91-98, 2009.

ABSTRACT: The objective of this study is evaluated the cytotoxicity and degree of monomer conversion of orthodontic adhesives, for this we utilize three adhesive materials, were evaluated: Transbond XT (3MUnitek, Monrovia, USA), Fill Magic Ortodóntico (Vigodent, Rio de Janeiro, Brazil) and Orthobond (Morelli, Sorocaba, Brazil). Fibroblast L929 cells were used to evaluate cytotoxicity and degree of monomer conversion of these adhesive materials. Three control groups were also included in the study as follows: Group C+ (positive control) consisting of Tween 80 detergent, Group C- (negative control) consisting of PBS, and Group CC (cell control) consisting of cells not exposed to any material. Cytotoxicity was evaluated by using the dye-uptake technique, which consists of assessing the incorporation of neutral red into viable cells and infra-red spectroscopy was employed to assess the degree of conversion. The results showed that all the adhesive materials being studied were cytotoxic. The values of cell viability for these materials were statistically different between groups CC and C- ($P < 0.05$). With regard to monomer conversion, statistical differences were found between the four materials evaluated. Based on the present study, one can conclude that all the adhesive materials were found to be cytotoxic during the experimental period. Cytotoxicity was directly related to the degree of monomer conversion of the adhesive materials evaluated.

KEY WORDS: composite resins, cytotoxicity tests, immunologic, Bisphenol A-Glycidyl Methacrylate.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcaide, M.; Serrano, M. C.; Pagani, R.; Sánchez-Salcedo, S.; Nieto, A.; Vallet-Regí, M. & Portolés, M. T. L929 fibroblast and Saos-2 osteoblast response to hydroxyapatite-betaTCP/agarose biomaterial. *J. Biomed. Mater. Res.*, 89(2):539-49, 2008.
- Boyd, R. L. & Baumrind, S. Periodontal considerations in the use of bonds or bands on molars in adolescents and adults. *Angle Orthod.*, 62(2):117-26, 1992.
- Buonocore, M. A simple method of increase the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J. Dent. Res.*, 34:849-53, 1955.
- Cunha, L. G.; Alonso, R. C.; Neves, A. C.; de Goes, M. F.; Ferracane, J. L. & Sinhoretí, M. A. Degree of conversion and contraction stress development of a resin composite irradiated using halogen and LED at two C-factor levels. *Oper. Dent.*, 34(1):24-31, 2009.
- DeWald, J. P. & Ferracane, J. L. A comparison of four modes of evaluating depth of cure of light-activated composites. *J. Dent. Res.*, 66(3):727-30, 1987.
- Donadio, M.; Jiang, J.; Safavi, K. E. & Zhu, Q. Cytotoxicity evaluation of Activ GP and Resilon cones in vitro. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 106(1):e76-9, 2008.
- Eliades, T.; Johnston, W. M. & Eliades, G. Direct light transmittance through ceramic brackets. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 107(1):11-9, 1995.
- Eliades, T.; Eliades, G.; Bradley, T. G. & Watts, D. C. Degree of cure of orthodontic adhesives with various polymerization initiation modes. *Eur. J. Orthod.*, 22(4):395-9, 2000.
- Estrela, C. *Metodologia científica: ensino e pesquisa em odontologia*. 2ed. São Paulo, Artes Médicas, 2005.
- Feizzadeh, B.; Afshari, J. T.; Rakhshandeh, H.; Rahimi, A.; Brook, A. & Doosti, H. Cytotoxic effect of saffron stigma aqueous extract on human transitional cell carcinoma and mouse fibroblast. *Urol. J.*, 5(3):161-7, 2008.
- Franz, A.; Konig, F.; Lucas, T.; Watts, D. C. & Schedle, A. Cytotoxic effects of dental bonding substances as a function of degree of conversion. *Dent. Mater.*, 25(2):232-9, 2009.
- Gorelik, L. Bonding metal brackets with a self-polymerizing sealant composite: a 12 month assessment. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 75:542-53, 1977.
- Griffon, G.; Marchal, C.; Merlin, J. L.; Marchal, S.; Parache, R. M. & Bey, P. Radiosensitivity of multicellular tumour spheroids obtained from human ovarian cancers. *Eur. J. Cancer*, 31A(1):85-91, 1995.
- Hobson, R. S.; Ledvinka, J. & Meechan, J. G. The effect of moisture and blood contamination on bond strength of a new orthodontic bonding material. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 120(1):54-7, 2001.
- Jagdisha, N.; Padmanabhanb, S.; Chitharanjanc, A. B.; Revathid, J.; Palanie, G.; Sambasivamf, M.; Sheriffg, K. & Saravanamuralih, K. Cytotoxicity and Degree of Conversion of Orthodontic Adhesives. *Angle Orthod.*, 79(6):1133-8, 2009.
- Jin, C. Y.; Zhu, B. S.; Wang, X. F. & Lu, Q. H. Cytotoxicity of titanium dioxide nanoparticles in mouse fibroblast cells. *Chem. Res. Toxicol.*, 21(9):1871-7, 2008.
- Jorge, J. H.; Giampaolo, E. T. & Pavarina, A. C. Cytotoxicity of the dental materials. A literature review. *Rev. Odontol. UNESP*, 33(2):65-8, 2004.
- Neyndorff, H. C.; Bartel, D. L.; Tufaro, F. & Levy, J. G. Development of a model to demonstrate photosensitizer-mediated viral inactivation in blood. *Transfusion*, 30(6):485-90, 1990.
- Nordenvall, K. J. B. M. & Malmgren T. The effect of various pretreatment methods of the enamel in bonding procedures. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 74:522- 30, 1978.
- Peutzfeldt, A. Resins composites in dentistry: the monomer systems. *Eur. J. Oral Sci.*, 105:97-116, 1997.
- Santos, R. L.; Pithon, M. M.; Oliveira, M. V.; Mendes,

G. S.; Romanos, M. T. V. & Ruellas, A. C. O. Cytotoxicity of introral orthodontic elastics. *Braz. J. Oral Sci.*, 7(24):1520-5, 2008.

Shin, D. H. & Rawls, H. R. Degree of conversion and color stability of the light curing resin with new photoinitiator systems. *Dent. Mater.*, In press, 2009.

Wan, A. C.; Yap, A. U. & Hastings, G. W. Acid-base complex reactions in resin-modified and conventional glass ionomer cements. *J. Biomed. Mater. Res.*, 48(5):700-4, 1999.

Zachrisson, B. U. *Bonding in orthodontic. In: Orthodontic Current Principle and Technique.* Graber, T. M. W. (Ed). St. Louis, Mosby, 1985. p.78.

Dirección para correspondencia:

Matheus Melo Pithon

Av. Otávio Santos, 395, sala 705,

Centro Odontomédico Dr. Altamirando da Costa Lima

Bairro Recreio, CEP 45020-750 – Vitória da Conquista, Bahia.

BRASIL

Tel.: (077) 3084-2020 / 8805-2750

Email: matheuspithon@bol.com.br

Recibido : 27-06-2009

Aceptado: 11-07-2009