

FACULDADE DE SETE LAGOAS – FACSETE
NÚCLEO DE ESTUDO E APERFEIÇOAMENTO ODONTOLÓGICO – NEAO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA (*LATO SENSU*)
ESPECIALIZAÇÃO EM ORTODONTIA

PAULYANA PRYSCILLA DE MELO FREIRE

ESTUDO IN VITRO DE CITOTOXICIDADE DE LIGADURAS ELASTOMÉRICAS
ORTODÔNTICAS

JOÃO PESSOA
2018

PAULYANA PRYSCILLA DE MELO FREIRE

ESTUDO IN VITRO DE CITOTOXICIDADE DE LIGADURAS ELASTOMÉRICAS
ORTODÔNTICAS

Monografia apresentada ao curso do Núcleo
de Estudo e Aperfeiçoamento Odontológico -
NEAO, como requisito parcial para a
conclusão do Curso de Ortodontia.

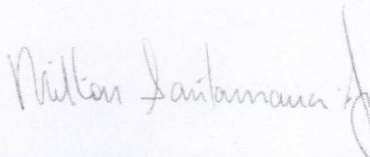
Orientador: Rinaldo Moreira Pinto

JOÃO PESSOA

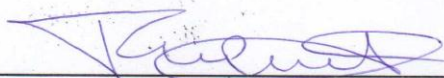
2018

FACULDADE SETE LAGOAS-FACSETE
NÚCLEO DE ESTUDO E APERFEIÇOAMENTO ODONTOLÓGICO-NEAO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA (LATO SENSU)
ESPECIALIZAÇÃO EM ORTODONTIA

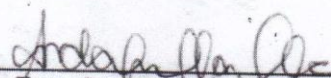
Monografia intitulada "Estudo in vitro de citotoxicidade de ligaduras elastoméricas ortodônticas" de autoria do (a) aluno (a) **Paulyana Priscilla de Melo Freire**, aprovada pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:



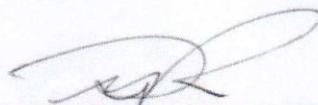
Prof. Dr. Milton Santamaria Júnior/ FHO-UNIARARAS
Coordenador da Pós-graduação (Lato sensu) em Ortodontia



Prof. Dr. Rinaldo Moreira Pinto /UFPB
Orientador



Profa. Esp. Andréa Lins Leitão da Cunha / NEAO
Examinadora 1



Prof. Dr. Moara De Rossi/ FORP - USP
Examinadora 2

João Pessoa, 16 / 02 / 2018.

RESUMO

Este estudo investigou a citotoxicidade de ligaduras elastoméricas ortodônticas de corante de poliuretano. Seis ligaduras de diferentes fabricantes foram divididas em 6 grupos de 10 elásticos cada: Grupos P1, P2, P3, P4, P5 e P6 (Poliuretano). O ensaio de citotoxicidade foi realizado usando células de linha L-929, que foram submetidos ao teste de viabilidade celular com rede neutra ("absorção de tinta") em intervalos de tempo de 1, 2, 3, 7 e 28 dias. Foi utilizada análise de variância (ANOVA) com comparações múltiplas e o teste de Tukey ($p < 0,05$). Houve diferenças estatísticas ($p < 0,05$) na viabilidade celular entre os Grupos P1, P4, P2 e P3, e os Grupos P5 e P6 aos 1 e 2 dias. Todas as ligaduras elastoméricas foram consideradas adequadas para uso clínico. A hipótese foi aceita, os elastômeros P5 e P6 e a via de processamento da moldagem por injeção para essas ligaduras apresentaram a menor viabilidade celular, devido à temperatura e pressão do processamento desses elastômeros.

Palavras-chave: citotoxicidade, elastômeros, cultura celular, ortodontia

ABSTRACT

This study investigated the cytotoxicity of crystal-coloured orthodontic elastomeric ligatures of polyurethane. Six ligatures from distinct manufactures were divided into 6 groups of 10 elastics each: Groups P1, P2, P3, P4, P5 and P6 (Polyurethane). The cytotoxicity essay was performed using L-929 line cells, which were submitted to the cell viability test with neutral red (“dye-uptake”) at time intervals of 1, 2, 3, 7 and 28 days. Analysis of variance (ANOVA) with multiple comparisons and Tukey’s test were used ($p < .05$). There were statistical differences ($p < .05$) in cell viability between Groups P1, P4, P2 and P3, and Groups P5 and P6 at 1 and 2 days. All elastomeric ligatures were considered suitable for clinical use. The hypothesis was accepted, the P5 and P6 elastomers and the processing route of injection molding for these ligatures showed the lowest cell viability, due the temperature and pressure distinct in the processing of these elastomers.

Keywords: cytotoxicity, elastomers, cell culture, orthodontics

LISTA DE ILUSTRAÇÕES/TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 – Grupos experimentais e de controle utilizados para os ensaios..... | 09 |
| Tabela 2 – Estatística Descritiva..... | 12 |
| Figura 1 – Aspecto celular..... | 12 |
| Figura 2 – Gráfico - Percentual de viabilidade das ligaduras elastoméricas..... | 16 |

SUMÁRIO

| | |
|---------------------------------|----|
| 1 - INTRODUÇÃO..... | 07 |
| 2 - MATERIAL E METODOS..... | 09 |
| 3 – RESULTADOS..... | 12 |
| 4 – DISCUSSÃO..... | 14 |
| 5 – CONCLUSÃO..... | 18 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 19 |

INTRODUÇÃO

Os elásticos de látex são comumente usados no tratamento ortodôntico, no entanto, o teor de proteína do látex é um alérgeno conhecido. A alergia produzida por proteínas de látex, incluindo reações imediatas de hipersensibilidade (PALOUSHO, T. et al., 2002) (WAKELIN, S.H. et al., 1999) foi bem documentada, e a prevalência de alergia ao látex foi relatada entre 3% e 17% (TOMAZIC, V.J. et al., 1992) (TURJANMAA, K, et al.,1996). Além disso, profissionais e pacientes correm maior risco de reações de hipersensibilidade (PERRELLA, F.W., GASPARI, A. A., 2002).

A produção de látex prevulcanizado envolve a mistura de látex de borracha natural com estabilizadores químicos de vulcanização (WAKELIN, S.H., WHITE, I.R., 1999) (PERRELLA, F.W., GASPARI, A. A., 2002). O processo adiciona alguns compostos tóxicos. Os estabilizadores e agentes de reticulação tais como óxidos de zinco, aceleradores de dialquilditocarbonamato (DTC) e enxofre são adicionados ao látex de borracha natural durante a fabricação (PERRELLA, F.W., GASPARI, A. A., 2002).

Como alternativa ao látex, foram lançados no mercado diferentes tipos e composições de elastômeros, como elásticos de poliuretano e silicone, para diminuir o risco de reações alérgicas causadas por elásticos de latex ortodônticos. Entre estas reações (WAKELIN, S.H., WHITE, I.R., 1999), pode-se citar inchaço e estomatite, lesões orais eritematosas, reações respiratórias e até mesmo choque anafilático, a forma mais grave de alergia (TOMAZIC, V.J. et al. 1992).

Contudo, pouco se sabe sobre a possibilidade de as ligaduras ortodônticas de poliuretano serem citotóxicas para células mucosas bucais (PALOUSHO, T. et al., 2002) (WAKELIN, S.H. et al., 1999) (TURJANMAA, K. et al., 1996) (PERRELLA, F.W., GASPARI, A. A., 2002) (FIDDLER, W. et al., 1992) (HWANG, C.J. e CHA, J.Y.,2002). TOMAZIC, V.J. et al. 1992)HWANG, C. J., CHA J.Y., 2003). As linhas celulares (LESSA, F.C.R. et al. 2010), tais como os fibroblastos de camundongo L 929 (MIRANDA, R. B., et al., 2009), demonstraram comportar-se de forma semelhante aos fibroblastos gengivais humanos primários e, portanto, são um modelo adequado para testar a toxicidade (D'ANTO, V. et al., 2011) (LESSA, F.C.R. et al, 2011) (LIMBERGER, K.M. et al., 2011) (YEAP, S.K. et al., 2012) do uso intra-

oral durante o tratamento ortodôntico (ESQUEMA, A. et al., 1995) (FRANZ, A. et al., 2007) (SCHMALZ, G., 2002). Dada a hipótese de que existe uma diferença na citotoxicidade entre fabricantes de elásticos diferentes, o objetivo do presente estudo in vitro foi testar a citotoxicidade das ligaduras elastoméricas de poliuretano em ortodontia.

MATERIAL E METODOS

Foram selecionadas ligaduras elastoméricas ortodônticas de cor cristal (poliuretano) de 6 fabricantes diferentes (tipo modular) para estudo de citotoxicidade (Tabela 1). As amostras foram divididas em 6 grupos de 10 elásticos cada: Grupo P1 (3M Unitek, Monrovia, Califórnia, EUA), Grupo P2 (TP Orthodontics, Lodi, Califórnia, EUA), Grupo P3 (American Orthodontics, Sheboygan, Wisconsin, EUA) Grupo P4 (GAC International, Bohemia, Nova York, EUA), Grupo P5 (Morelli, Sorocaba, São Paulo, Brasil) e Grupo P6 (Tecnidente, São Carlos, São Paulo, Brasil). Todas as amostras tiveram datas de fabricação recentes, eram do mesmo lote de produção e vieram em embalagens plásticas seladas. O revestimento em pó das ligaduras elastoméricas foi removido. Os elásticos foram lavados durante 15 segundos com água desionizada utilizando um sistema de purificação Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA). Antes de testar todas as ligaduras elastoméricas foram esterilizadas por exposição à luz ultravioleta (Labconco, Kansas, Missouri, EUA) durante 30 minutos (SANTOS, R.L. et al., 2009) (SANTOS, R.L. et al., 2010).

Table 1. Experimental and control groups used for the assays.

| Groups | Trademark | Main Composition | Color | Reference number |
|--------|---|---------------------------------|---------|------------------|
| P1 | Unitek | Polytetramethylene ether glycol | crystal | 406-870 |
| P2 | TP Orthodontics | Polytetramethylene ether glycol | crystal | 383-921 |
| P3 | American Orthodontics | Polytetramethylene ether glycol | crystal | 854-279 |
| P4 | GAC | Polytetramethylene ether glycol | crystal | 59-650-70 |
| P5 | Morelli | Polytetramethylene ether glycol | crystal | 60-06-100 |
| P6 | Tecnident | Polytetramethylene ether glycol | crystal | 407-001 |
| C+ | Tween 80 (Polyoxyethylene-20-sorbitan, Sigma, St. Louis, Missouri, USA) | | | |
| C- | PBS solution (phosphate-buffered saline, Cultilab, Campinas, São Paulo, Brazil) | | | |

O modelo de cultura celular utilizado foi a monocamada contendo células de linha L-929 (American Type Culture Collection - ATCC, Rockville, MD, EUA) foi mantida no meio essencial mínimo de Eagle (Cultilab, Campinas, Brasil) adicionando 0,03 mg.mL⁻¹ de glutamina, 50 µg.mL⁻¹ de garamina, 2,5 µg.mL⁻¹ de fungizona, solução a 0,25% de bicarbonato de sódio, 10 mM de HEPES e 10% de soro bovino

fetal para meio de crescimento. Em seguida, o meio de cultura de células foi incubado a 37 ° C durante 48 horas.

Para verificar a resposta celular em situações extremas, três grupos adicionais foram incluídos no estudo: Grupo CC (controle celular), consistindo de células L-929 não expostas a sobrenadantes das ligaduras elastoméricas; Grupo C + (controle positivo), consistindo em Tween 80 (Polyoxyethylene-20-sorbitan, Sigma, St. Louis, Missouri, EUA); Grupo C- (controle negativo), constituído por solução salina tamponada com fosfato (PBS) (Tabela 1). Os controles positivo e negativo foram incubados em meio de manutenção de MEM (meio essencial mínimo de Eagle) durante 1, 2, 3, 7 e 28 dias e os fluídos extraídos foram adicionados às células da linha L-929 incubadas no meio de crescimento.

A citotoxicidade desses elásticos ortodônticos foi determinada por meio da técnica de absorção de corante (NEYNDORFF, H.C. et al., 1990), que se baseia na absorção vermelha neutra por células vivas. Como essas ligaduras elastoméricas geralmente são mantidas na cavidade oral por até 4 semanas, uma vez que os pacientes usando aparelhos fixos costumam visitar o ortodontista uma vez por mês. Diferentes períodos de tempo foram considerados: 1, 2, 3, 7 e 28 dias. Estes períodos experimentais representaram os intervalos de tempo durante os quais as ligaduras elastoméricas foram mantidas sob condições de cultura celular antes de serem removidas delas.

2.1. *Captação de tinta*

Os volumes de 100 µL de células L-929 foram distribuídos em microplacas de 96 poços. Após 48 horas, o meio de crescimento foi substituído por 100 µL de meio essencial mínimo de Eagle (MEM) obtido após incubação nos diferentes tipos de ligaduras elastoméricas para intervalos de tempo de 1, 2, 3, 7 e 28 dias. O meio essencial mínimo de Eagle foi usado porque é o mesmo tipo de material usado para manutenção celular, não influenciando os resultados.

Após 24 horas de incubação, foram adicionados 100 µL de corante vermelho neutro a 0,01 por cento (Sigma, St. Louis, Missouri, EUA) a cada poço na microplaca e incubados durante 3 horas a 37 ° C. Após este intervalo de tempo, 100 µL de solução de formaldeído a 4% em PBS (130 mmol de NaCl, 2 mmol de KCl, 6 mmol

de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1 mmol de K_2HPO_4 1 mmol, pH 7,2) foram adicionados a cada poço para promover a ligação celular à placa. Após 5 minutos, foram adicionados 100 μL de ácido acético a 1% e 50% de metanol para remover o corante não absorvido pelas células. Após 20 minutos, utilizou-se um espectrofotômetro (BioTek, Winooski, Vermont) a um comprimento de onda de 492 nm para determinar o corante absorvido pelas células. Como as ligaduras elastoméricas podem estar na cavidade oral durante até 4 semanas, a viabilidade celular foi determinada após a exposição ao MEM em que os elásticos foram incubados por 1, 2, 3, 7 e 28 dias. A citotoxicidade dos materiais foi determinada de acordo com o padrão ISO 10993-5 para avaliação e padronização.

Para classificar a citotoxicidade, uma comparação post hoc foi realizada (EINOT, I. e GABRIEL, K.R., 1977) (WELSCH, R.E. et al., 1977) Os cálculos estatísticos foram realizados com análise de variância de 1 via (ANOVA) seguida pelo teste post hoc de Tukey. *P*-valores inferiores a 0,05 foram considerados para indicar diferenças significativas. Cada cultura foi considerada uma amostra individual.

RESULTADOS

Houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre a viabilidade das células no Grupo CC (Figura 1a) e todos os outros grupos aos 1, 2, 3, 7 e 28 dias. Além disso, não houve diferenças estatisticamente significativas entre a viabilidade das células nos Grupos P1, P4, P2 (Figura 1b) e P3, ou entre os Grupos P5 e P6 (Figura 1c) aos 1 e 2 dias; entre os Grupos P1, P4, P2, P3 e P5 aos 3 dias; ou Grupos P1, P4, P2, P3 e P6 aos 7 dias; ou Grupos P1, P4, P2 e P3; ou Grupos P4, P2, P5 e P6 aos 28 dias (Tabela 2 e Figura 2). A 1 e 2 dias, houve uma redução nas células viáveis em todos os Grupos, em comparação com os demais intervalos de tempo experimentais (Tabela 2 e Figura 2).

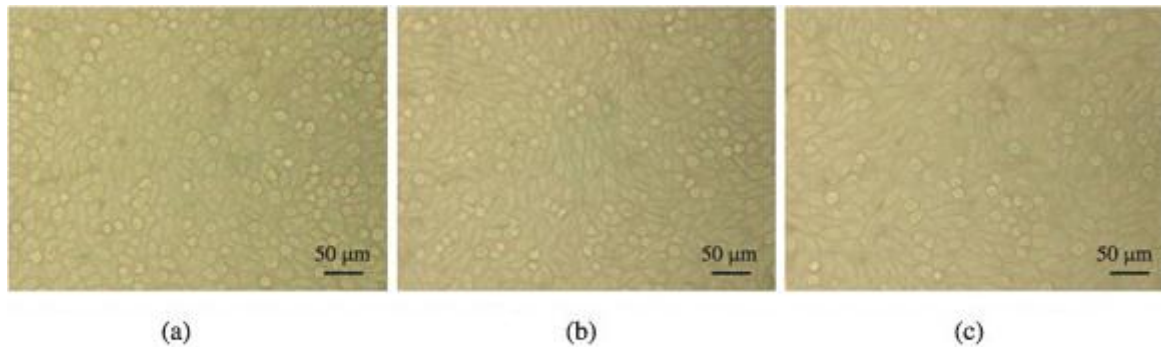


Figure 1. Cell aspect. a) cell control; b) Group P2 (TP Orthodontics) at 2 days; c) Group P6 (Tecnident) at 2 days. Bar = 50 µm.

Table 2. Descriptive statistics for optical density of elastomeric ligatures at 1 to 28 days.

| Groups | Time (2 days) | | | Time (3 days) | | | Time (7 days) | | | Time (28 days) | | | | | |
|--------|---------------|------|--------|---------------|------|--------|---------------|------|--------|----------------|------|--------|--------|------|-------|
| | M | SD | VC (%) | M | SD | VC (%) | M | SD | VC (%) | M | SD | VC (%) | | | |
| CC | .651a | .045 | 100.0 | .718a | .029 | 100.0 | .790a | .044 | 100.0 | .632a | .036 | 100.0 | .910a | .038 | 100.0 |
| C- | .639 | .041 | 98.3 | .696 | .047 | 97.0 | .763 | .044 | 96.6 | .603 | .022 | 95.5 | .862 | .039 | 94.8 |
| C+ | .064 | .009 | 9.90 | .058 | .010 | 8.10 | .077 | .010 | 9.80 | .055 | .008 | 8.80 | .102 | .009 | 11.3 |
| P1 | .580b | .031 | 89.2 | .626b | .035 | 87.3 | .726b | .037 | 92.0 | .591b | .027 | 93.6 | .855b | .045 | 94.0 |
| P2 | .575b | .040 | 88.4 | .618b | .038 | 86.1 | .744b | .041 | 94.3 | .587b | .027 | 93.0 | .847bc | .044 | 93.1 |
| P3 | .592b | .038 | 91.0 | .644b | .044 | 89.7 | .727b | .045 | 92.1 | .597b | .039 | 94.5 | .855b | .049 | 94.0 |
| P4 | .591b | .032 | 90.8 | .642b | .035 | 89.5 | .726b | .047 | 91.9 | .575b | .029 | 91.1 | .839bc | .025 | 92.2 |
| P5 | .547c | .038 | 84.1 | .575c | .043 | 80.2 | .721b | .037 | 91.3 | .544c | .047 | 86.1 | .829c | .033 | 91.1 |
| P6 | .522c | .037 | 80.3 | .560c | .035 | 78.0 | .680c | .040 | 86.1 | .576b | .048 | 91.2 | .833c | .034 | 91.6 |

N = 10. Analysis of variance ANOVA and Tukey's test were employed ($p < 0.05$). Values followed by same letters are not significantly different ($\alpha > 0.05$) for the same time. M: Mean. SD: standard deviation. VC: Viable Cells.

Às 24 horas, a percentagem de células viáveis variou entre 91,0% no Grupo P3 para 80,3% no Grupo P6 para ligaduras elastoméricas. Estas percentagens de células viáveis diminuíram ligeiramente nas 24 horas seguintes em todos os grupos. Depois disso, houve um aumento contínuo em todos os grupos entre os dias 3 e 28.

DISCUSSÃO

O modelo de cultura celular utilizado no presente estudo foi a monocamada com células da linhagem L 929 (TOMAKIDI, P. et al., 2000). Este modelo foi utilizado em conjunto com a técnica de captação de corantes (NEYNDORFF, H.C. et al., 1990) porque a citotoxicidade dos materiais pode ser determinada por espectrofotometria.

O ensaio espectrofotométrico permite obter evidências rápidas e confiáveis de viabilidade celular com base no uso de manchas vitais incorporadas por células viáveis (PITHON, M.M. et al., 2010) (SANTOS, R.L. et al., 2008) (DOS SANTOS, R.L. et al., 2011) (PITHON, M.M. et al., 2010). Neste estudo, foi utilizada rede neutra, pois é amplamente utilizada para identificar a viabilidade celular L-929 (PITHON, M.M. et al., 2010) (DOS SANTOS, R.L. et al., 2011) (PITHON, M.M. et al., 2010). Os sinais vitais mortos não são reconhecidos na leitura óptica. Portanto, a espectrofotometria não permite que as células mortas sejam distinguidas das danificadas (PITHON, M.M. et al., 2010).

Os fibroblastos de camundongo L-929 foram utilizados porque proporcionam resultados comparáveis aos dos fibroblastos gengivais humanos primários (ESQUEMA, A. et al., 1995) (FRANZ, A. et al., 2007), no entanto, não se pode interpretar a cultura celular como uma resposta humana (YEAP, S.K. et al., 2012).

A percentagem de células viáveis foi obtida comparando a densidade óptica média (OD) no grupo de controle (células sem contato com ligaduras elastoméricas) com a obtida a partir de sobrenadantes de culturas celulares que tinham estado em contato com ligaduras elastoméricas (SANTOS, R.L. et al., 2009) (DOS SANTOS, R.L. et al., 2010).

Como a esterilização é um pré-requisito para ensaios de citotoxicidade, a radiação ultravioleta (DOS SANTOS, R.L., 2009) (SANTOS, R, L., 2011) foi realizada em cada superfície elástica usada neste estudo por 30 minutos. Observou-se que todos exibiram o mesmo aspecto de cor e maleabilidade após a esterilização com luz UV.

Como a borracha de látex natural foi usada como material dentário, muitos problemas de citotoxicidade foram relatados (FIDDLER. W. et al., 1992). Os

conservantes como o enxofre e o óxido de zinco, bem como antioxidantes, como di-tio-carboidratos, N-nitrosodibutilamina e N-nitrosopiperidina, são conhecidos como substâncias citotóxicas (HWANG, C.J. et al., 2003). Holmes et al. (1993), verificaram se os corantes utilizados na fabricação de látex colorido poderiam ter algum efeito tóxico. Seus resultados mostraram que esses agentes apresentaram baixa toxicidade, no entanto, esse efeito é clinicamente inofensivo.

Em vista dos relatos de alergia ao látex na literatura (SNYDER, H.A. e SETTLE, S., 1994) (NEIBURGER, E.J.,1991), este estudo avaliou a citotoxicidade de materiais sem látex utilizados como alternativa ao látex, como as ligaduras elastoméricas ortodônticas de poliuretano, pois as ligaduras elastoméricas de cor cristalina são usadas com aparelhos metálicos, sendo esta a cor mais aplicável para aparelhos estéticos.

A alergia ao látex natural ocorre devido à presença de muitos tipos de proteínas, e os elásticos ortodônticos de revestimento em pó funcionam como veículo para essas proteínas. Portanto, o desenvolvimento de elásticos não látex para uso clínico tornou-se cada vez mais importante.

Derivados elásticos de poliuretanos, são polímeros termoplásticos processados por moldagem, por injeção e por sinterização. Após as reações químicas da polimerização que se originam, aparecem como massas amorfas, cujas cadeias de polímeros possuem forças de tração relativamente fracas entre elas e ligações químicas localizadas aleatoriamente ao longo dessas correntes (MORTON, M., 1990). Para melhorar suas propriedades mecânicas, deve ocorrer a união entre as correntes laterais através de ligações covalentes cruzadas usando o processo conhecido como vulcanização. Assim, as estruturas tridimensionais são formadas convertendo-se para produto flexível em um material altamente resistente, mas elástico (MORTON, M., 1990). Neste estudo, as ligaduras elastoméricas P5 e P6 demonstraram ser mais maleáveis do que as demais, resultado de um processo de cura diferente.

P1, P2, P3 e P4 foram avaliados nas propriedades biológicas, e observou-se que estes materiais induziram uma menor quantidade de lise celular em comparação com as outras ligaduras elastoméricas de poliuretano. À medida que o revestimento em pó das ligaduras elastoméricas de todos os fabricantes foi removido antes de realizar os estudos in vitro, não era possível saber se esse pó teria tido qualquer

efeito. O pó foi removido para padronizar as amostras quanto à composição e a quantidade de pó presente nas ligaduras elastoméricas poderia interferir com os resultados.

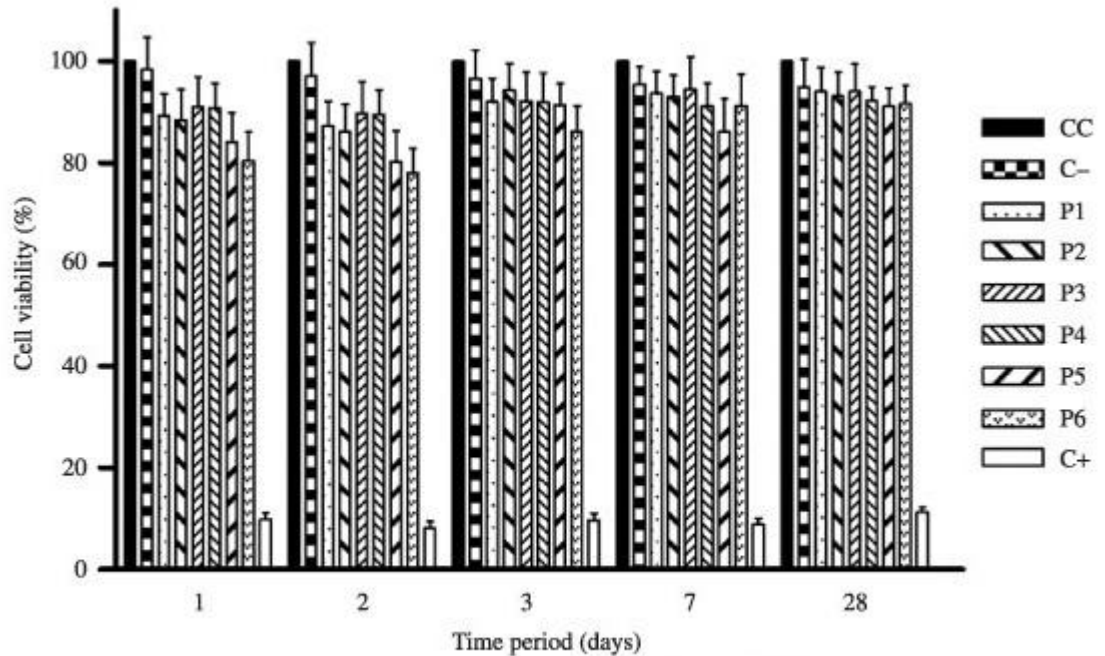


Figure 2. Percentage viability of tested elastomeric ligatures obtained by spectrophotometry.

De acordo com Schmalz (1994), o grande risco é que os elásticos intra-orais potencialmente citotóxicos possam liberar substâncias que possam ser ingeridas pelo paciente ao longo do tempo, causando doenças resultantes de um efeito cumulativo.

A evidência desta característica citotóxica foi mostrada após as ligaduras elastoméricas serem expostas a um meio de cultura de células. As ligaduras elastoméricas P5 e P6 induziram uma maior quantidade de lise celular às 24 e 48 horas, sugerindo uma maior liberação de ingredientes tóxicos às 48 horas, devido à possibilidade de degradação de poliuretano e liberação de componentes citotóxicos, que foi mostrado nos dias 1 e 2 e diminuiu nos dias 3, 7 e 28. Isso mostrou que a liberação de componentes citotóxicos não é constante nem contínua.

Huget et al. (1990), relataram que a exposição do elastômero na água leva ao enfraquecimento das forças intermoleculares e, portanto, à degradação da química. Assim, tal condição pode influenciar as propriedades biológicas desses materiais, como a viabilidade celular avaliada neste estudo.

O melhor desempenho dos outros grupos em comparação com as ligaduras elastoméricas P5 e P6, sugerindo que diferentes processos na fabricação das ligaduras conduzem às suas diferentes características citotóxicas, embora sejam feitos do mesmo tipo de material - base, o politetrametileno éter glicol.

As ligaduras elastoméricas ortodônticas P1, P2 e P3 apresentaram pouca capacidade de induzir a lise celular independentemente do intervalo de tempo avaliado. As ligaduras elastoméricas avaliadas neste estudo mostraram 80% de viabilidade celular, independentemente do intervalo de tempo experimental, com exceção das ligaduras elastoméricas P6 no dia 2. No estudo realizado por Hanson et al. (2004), que avaliaram os elásticos de látex interior (látex) de látex de 3/16 polegadas e não látex, a presença de lise celular foi 50% maior para os elásticos de látex em comparação com os tipos de látex. No entanto, os autores consideraram os dois tipos de elásticos apropriados para uso ortodôntico. Portanto, sugere-se que os elásticos com viabilidade celular inferior a 50% devem ser evitados para evitar efeitos cumulativos dos componentes citotóxicos libertados no corpo por esses elásticos (SCHMALZ, G., 1994). Assim, todas as ligaduras elastoméricas avaliadas neste estudo podem ser consideradas clinicamente biocompatíveis.

Parece haver uma relação importante entre o processo de fabricação dessas ligaduras e sua natureza citotóxica. A qualidade das ligaduras elastoméricas é definida pelo grau de tecnologia utilizada, pelo refinamento da técnica de produção e pela qualidade das matérias-primas utilizadas durante a fabricação do material (MORTON, M., 1990).

Como esses materiais são amplamente utilizados em ortodontia clínica, deve-se tomar cuidado quanto à citotoxicidade das ligaduras elastoméricas ortodônticas, particularmente no que se refere às ligaduras, pois estão em contato muito próximo com a gengiva. Deve-se ressaltar que o uso de elastômeros em pacientes com hiperplasia gengival e / ou potenciais problemas periodontais deve ser do tipo com menor natureza citotóxica ou, de preferência, ligaduras metálicas (SANTOS, R.L., 2011).

CONCLUSÃO

A hipótese foi aceita, os elastômeros P5 e P6 e a via de processamento da moldagem por injeção para essas ligaduras apresentaram a menor viabilidade celular, devido à temperatura e pressão do processamento desses elastômeros. No entanto, este é um estudo in-vitro e as interpretações clínicas precisam ser feitas com cautela.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Palosuo T, Alenius H e Turjanmaa K. Quantificação de alérgenos de látex. *Métodos* . 2002; 27: 52-58.
2. Wakelin SH e White IR. Alergia ao látex de borracha natural. *Dermatologia clínica e experimental* . 1999; 24: 245-248. PMID: 10457121.
3. Tomazic VJ, Withrow TJ, Fisher BR e Dillard SF. Alergias associadas ao látex e reações anafiláticas. *Clin Immunol Immunopathol* . 1992; 64: 89-97.
4. Turjanmaa K, Alenius H, Makinen-Kiljunen S, Reunala T e Palosuo T. Alergia natural ao látex de borracha. *Alergia* . 1996; 51: 593-602. PMID: 8899110
5. Perrella FW e Gaspari AA. Redução da proteína de látex de borracha natural com ênfase no tratamento enzimático. *Métodos*. 2002; 27: 77-86.
6. Fiddler W, Pensabene J, Sphon J e Andrzejewski D. Nitrosaminas em bandas de borracha utilizadas para fins ortodônticos. *Toxicologia alimentar e química* . 1992; 30: 325-326.
7. Hwang CJ e Cha JY. Comparação mecânica e biológica de bandas de borracha de látex e silicone. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* . 2003; 124: 379-386.
8. Lessa FCR, Aranha AMF, Hebling J e Costa CAS. Efeitos citotóxicos dos cimentos White-TA e MTA-Bio em células tipo odontoblastos (MDPC-23). *Jornal Dental Brasileiro* . 2010; 21: 24-31. PMID: 20464317.
9. Miranda RB, Fidel SR e Boller MA. L929 resposta celular aos cimentos de reparação de perfuração radicular: um teste de citotoxicidade in vitro. *Jornal Dental Brasileiro* . 2009; 20: 22-26. PMID: 19466226.
10. D'Anto V, Spagnuolo G, Schweikl H, Rengo S, Ambrosio L, Martina R et al. Efeito da N-acetil cisteína na citotoxicidade dos iniciadores ortodônticos. *Materiais Dentários* . 2011; 27: 180-186. PMID: 21081246.

11. Hafez HS, Selim EM, Kamel Eid FH, Tawfik WA, Al-Ashkar EA e Mostafa YA. Citotoxicidade, genotoxicidade e liberação de metal em pacientes com aparelhos ortodônticos fixos: estudo longitudinal *in vivo*. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* . 2011; 140: 298-308. PMID: 21889074.
12. Limberger KM, Westphalen GH, Menezes LM, Medina-Silva R. Citotoxicidade de materiais ortodônticos avaliados por testes de sobrevivência em *Saccharomyces cerevisiae*. *Materiais Dentários* . 2011; 27: e81-86. PMID: 21376384.
13. Yeap SK, Omar AR, Ali AM, Ho WY, Beh BK e Alitheen NB. Efeito imunomodulador de raphidophora korthalsii sobre a citotoxicidade das células assassinas naturais. *Medicina complementar e alternativa baseada em evidências*. 2012; 2012: 786487
14. Esquema A, Samorapoompichit P, Rausch-Fan XH, Franz A, Fureder W, Sperr WR et al. Resposta de fibroblastos L-929, fibroblastos gengivais humanos e mastócitos de tecido humano a várias catiões metálicos. *Journal of Dental Research* . 1995; 74: 1513-1520. PMID: 7560408.
15. Franz A, König F, Skolka A, Sperr W, Bauer P, Lucas T et al. Citotoxicidade de compósitos de resina como função da área de interface. *Materiais Dentários* . 2007; 23: 1438-1446. PMID: 17688932.
16. Schmalz G. Uso de culturas celulares para testes de toxicidade de materiais dentários - vantagens e limitações. *Jornal de Odontologia* . 1994; 22 Suplemento 2: S6-11.
17. Santos RL, Pithon MM, Mendes GS, Romanos MTV e Ruellas ACO. Citotoxicidade dos elásticos ortodônticos intermaxilares de diferentes cores: estudo *in vitro*. *Journal of Applied Oral Science* . 2009; 4: 326-329. PMID: 19668992
18. Dos Santos RL, Pithon MM, Martins FO, Romanos MT e De Oliveira Ruellas AC. Avaliação da citotoxicidade dos elásticos de látex e de latex ortodôntico separadores. *Ortodontia e Pesquisa Craniofacial* . 2010; 13: 28-33.

19. Neyndorff HC, Bartel DL, Tufaro F e Levy JG. Desenvolvimento de um modelo para demonstrar a inativação viral mediada pelo fotossensibilizador no sangue. *Transfusão* 1990; 30: 485-490. PMID: 2165643.
20. Einot I e Gabriel KR. Um estudo de poderes de vários métodos de comparações múltiplas. *Jornal da American Statistical Association* . 1975; 70: 574-583.
21. Welsch RE. Procedimentos de comparação múltiplos passo a passo. *Jornal da American Statistical Association* .1977; 72: 359-366.
22. Tomakidi P, Koke U, Kern R, Erdinger L, Kruger H, Kohl A et al. Avaliação da cito e genotoxicidade aguda dos eluatos de corrosão obtidos a partir de materiais ortodônticos utilizando culturas monocamadas de queratinócitos gengivais humanos imortalizados. *Journal of Orofacial Orthopedics* . 2000; 61: 2-19.
23. Pithon MM, dos Santos RL, Martins FO, Romanos MT e Araujo MT. Citotoxicidade dos elásticos de separação ortodôntica. *Australian Orthodontic Journal* . 2010; 26: 16-20. PMID: 20575194.
24. Santos RL, Pithon MM, Oliveira MV, Mendes GS, Romanos AC e Ruellas ACO. Citotoxicidade dos elásticos ortodônticos intraorais. *Revista Brasileira de Ciências Orais*. 2008; 24: 1520-1525.
25. Dos Santos RL, Pithon MM, Martins FO, Romanos MT e Ruellas AC. Avaliação da citotoxicidade e grau de conversão de cimentos de ionômero de vidro reforçados com resina. *O European Journal of Orthodontics* . 2011;2011: 21478300
26. Pithon MM, Santos RL, Martins FO, Romanos MTV e Araújo MTS. Avaliação da citotoxicidade e grau de conversão de adesivos ortodônticos em diferentes períodos de tempo. *Pesquisa de materiais* . 2010; 13: 165-169.
27. Holmes J, Barker MK, Walley EK e Tuncay OC. Citotoxicidade dos elásticos ortodônticos. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* . 1993; 104: 188-191.

28. Snyder HA e Settle S. O aumento da alergia ao látex: implicações para o dentista. *Jornal da American Dental Association* . 1994; 125: 1089-1097. PMid: 8064050.
29. Neiburger EJ. Um caso de possível alergia ao látex. *Journal of Clinical Orthodontics* . 1991; 25: 559-560. PMid: 1816265
30. Morton M. *Rubber Technology* . 3ª ed. Londres: Chapman & Hall; 1995. 638 p.
31. Huet EF, Patrik KS e Nunez LJ. Observações sobre o comportamento elástico do elastômero ortodôntico sintético. *Journal of Dental Research*. 1990; 69: 496-501. PMid: 2307753.
32. Hanson M e Lobner D. Citotoxicidade neuronal in vitro de elásticos ortodônticos de látex e não. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* . 2004; 126: 65-70. PMid: 15224061.
33. Santos RL, Pithon MM e Romanos MT. A influência dos níveis de pH nas propriedades mecânicas e biológicas dos elásticos de látex e látex. *Angle Orthodontist* . 2011.