

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

AVALIAÇÃO DA BIOCOMPATIBILIDADE *IN VITRO* DE RESINAS COMPOSTAS UNIVERSAIS SEM BISFENOL A

Trabalho submetido por
Yuéling Maïwen Le Bail
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Julho de 2026

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

AVALIAÇÃO DA BIOCOMPATIBILIDADE *IN VITRO* DE RESINAS COMPOSTAS UNIVERSAIS SEM BISFENOL A

Trabalho submetido por
Yuéling Maïwen Le Bail
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof.^a Doutora Carolina de Andrade Lima Chaves

e coorientado por
Prof.^a Doutora Madalena Salema Oom

Julho de 2026

AGRADECIMENTOS

A concretização desta dissertação marca o fim de um percurso académico exigente e enriquecedor, pelo que expresso a minha sincera gratidão a todos os que contribuíram para este trabalho e para a minha formação ao longo destes anos.

À Prof.^a Doutora Carolina de Andrade Lima Chaves, orientadora desta dissertação, agradeço a confiança depositada em mim, bem como a dedicação, disponibilidade e orientação exemplar que marcaram todo este percurso. O seu acompanhamento foi fundamental para tornar esta experiência simultaneamente enriquecedora e motivadora.

À Prof.^a Doutora Madalena Salema Oom, coorientadora desta dissertação, deixo um agradecimento especial pela orientação prestada na componente laboratorial deste trabalho. A sua pedagogia, generosidade e atenção constantes foram determinantes para a concretização deste projeto, ajudando-me a enfrentar cada desafio com confiança e serenidade.

À minha família, devo o apoio incondicional que tornou possível esta etapa. Aos meus pais, Vincent e Jien, agradeço todos os esforços, sacrifícios e incentivos que me permitiram chegar até aqui. Às minhas irmãs, Meïline e Louning, obrigada pela alegria e leveza que trouxeram aos momentos mais exigentes. À minha avó, “Amatxio”, agradeço o carinho, a serenidade e a presença constante ao longo deste percurso.

À minha parceira de clínica, Flavie, agradeço a amizade, a cumplicidade e a entreaajuda partilhadas durante esta caminhada. Às minhas amigas Anysia, Clara, Marine, Charlotte, Chiara, Narjes e Lucie, obrigada pela amizade sincera, pelo incentivo constante e por todos os momentos vividos ao longo destes cinco anos.

Por fim, estendo o meu agradecimento a todos aqueles que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização desta dissertação.

A todos, o meu mais profundo obrigada.

Declaração de Honra

Código| IMP-EM-EI-111_01

Declaro, por minha honra, que o presente trabalho académico é original e foi elaborado por mim própria, não se tendo recorrido a quaisquer outras fontes, para além das indicadas, usadas, adotadas literalmente ou adaptados a partir dos seus originais (em fontes impressas, não impressas ou na internet) e encontram-se adequados, identificados e citados, com observância das convenções do trabalho académico em vigor.

Mais declaro que esta Trabalho de Projeto final “Avaliação da biocompatibilidade *in vitro* de resinas compostas universais sem Bisfenol A” não foi apresentada, para efeitos de avaliação, a qualquer outra entidade ou instituição, para além da(s) diretamente envolvida(s) na sua elaboração, e que os conteúdos das versões impressa e eletrónica são inteiramente coincidentes.

Declaro, igualmente, encontrar-me ciente de que a inclusão, neste texto, de qualquer falsa declaração terá consequências legais.

Data: 13/06/2026

Declaração Conflito de Interesses (DCI)

Código| IMP-EM-EI-110_01

Eu Yuéling Maiwen Le Bail, referente a Trabalho de Projeto final “Avaliação da biocompatibilidade *in vitro* de resinas compostas universais sem Bisfenol A” declaro que não possuo conflitos de interesse de ordem pessoal, comercial, académica, político ou financeiro.

*caso exista conflito de interesse deve o autor sob compromisso de honra, declarar existir conflito (s) de interesse na sua participação do referido trabalho.

Data: 13/06/2026

Declaração de Financiamento

Código| IMP-EM-EI-113_01

Eu Yuéling Maiwen Le Bail, referente a Trabalho de Projeto final “Avaliação da biocompatibilidade *in vitro* de resinas compostas universais sem Bisfenol A” declaro que o meu trabalho não se encontra financiado.

*Caso o trabalho se encontre financiado deve o autor referir:

O Montante e Fonte de financiamento

A designação da Entidade Financiadora (entidades públicas, entidades privadas, autofinanciamento)

Breve descrição da parte ou do todo do projeto Financiado

Declaração de Ética e Registo

Código| IMP-EM-EI-112_01

Eu Yuéling Maiwen Le Bail, referente a Trabalho de Projeto final “Avaliação da biocompatibilidade *in vitro* de resinas compostas universais sem Bisfenol A” declaro que o meu trabalho não se aplica a aprovação pela Comissão de ética do Instituto Universitário Egas Moniz School of Health & Science.

Data: 13/06/2026

A presente Declaração de Disponibilidade de Dados reflete o compromisso do Instituto Universitário Egas Moniz em promover a transparência, a reprodutibilidade científica e o acesso aberto aos dados gerados no âmbito dos projetos a decorrer nesta IES, em conformidade com os princípios éticos e legais aplicáveis e com os princípios FAIR. Esta declaração estabelece as condições e as diretrizes para o acesso, o compartilhamento e a reutilização dos dados, garantindo que sejam utilizados de forma responsável e em benefício da comunidade científica e da sociedade.

A seguinte tabela apresenta diferentes opções de partilha de dados, incluindo exemplos de formatos e níveis de acessibilidade. Deverá seleccionar a(s) opção(ões) que melhor se adequa(m) ao seu projeto, assegurando o cumprimento das diretrizes éticas e científicas aplicáveis.

Tabela 1: Exemplos de declarações de disponibilidade de dados. Onde aparece [nome do repositório, por exemplo, "pure"] deve ser preenchido

Disponibilidade de dados	Modelo de declaração de disponibilidade de dados	Política de partilha	Assinale com "x"
Dados disponíveis num repositório público que emite conjuntos de dados com DOIs	Os dados que apoiam as conclusões deste estudo estão disponíveis em [nome do repositório, por exemplo, "pure"] em http://doi.org/[doi] , número de referência [número de referência].	Partilha geral sem pedido	
Dados abertamente disponíveis num repositório público que não emite DOIs	Os dados que apoiam as conclusões deste estudo estão disponíveis em [nome do repositório] em [URL], número de referência [número de referência].	Partilha geral sem pedido	
Dados derivados de recursos do domínio público	Os dados que apoiam as conclusões deste estudo estão disponíveis em [nome do repositório] em [URL/DOI], número de referência [número de referência]. Estes dados foram obtidos a partir dos seguintes recursos disponíveis no domínio público: [listar recursos e URLs]	Partilha geral sem pedido	
Dados disponíveis no artigo ou nos seus materiais suplementares	Os autores confirmam que os dados que suportam as conclusões deste estudo estão disponíveis no	Básico, partilhar a pedido	

Declaração de Disponibilidade de Dados

Código| IMP-EM-EI-150

Disponibilidade de dados	Modelo de declaração de disponibilidade de dados	Política de partilha	Assinale com "x"
	artigo [e/ou] nos seus materiais suplementares.		
Dados gerados numa instalação central de grande escala, disponíveis mediante pedido	Os dados em bruto foram gerados em [nome da instalação]. Os dados derivados que suportam as conclusões deste estudo estão disponíveis junto do autor correspondente [iniciais], mediante pedido.	Básico, partilhar a pedido	
Embargo dos dados devido a restrições comerciais	Os dados que suportam os resultados estarão disponíveis em [nome do repositório] em [URL / ligação DOI] após um embargo de [6 meses] a partir da data de publicação para permitir a comercialização dos resultados da investigação.	Básico, Partilhar a pedido	
Dados disponíveis a pedido devido a restrições de privacidade/éticas	Os dados que sustentam as conclusões deste estudo estão disponíveis mediante pedido ao autor correspondente, [iniciais]. Os dados não estão disponíveis ao público devido a [restrições, por exemplo, o facto de conterem informações que podem comprometer a privacidade dos participantes na investigação].	Básico, Partilhar a pedido	
Dados sujeitos a restrições de terceiros	Os dados que suportam as conclusões deste estudo estão disponíveis [junto de] [terceiros]. Aplicam-se restrições à disponibilidade destes dados, que foram utilizados sob licença para este estudo. Os dados estão disponíveis [através dos autores / no URL] com a permissão de [terceiros].	Básico, Partilhar a pedido	
Dados disponíveis a pedido dos autores	Os dados que suportam as conclusões deste estudo estão disponíveis junto do autor correspondente, [iniciais do autor], mediante pedido razoável.	Básico, Partilhar a pedido	x

Declaração de Disponibilidade de Dados

Código| IMP-EM-EI-150

Disponibilidade de dados	Modelo de declaração de disponibilidade de dados	Política de partilha	Assinale com "x"
Partilha de dados não aplicável - não foram gerados novos dados	A partilha de dados não é aplicável a este artigo, uma vez que não foram criados ou analisados novos dados neste estudo.	-	
Dados não digitais disponíveis	Os dados não digitais que suportam este estudo são conservados em [adicionar local].	Básicos	
Dados não disponíveis devido a restrições [éticas/legais/comerciais]	Devido à natureza da investigação, os dados de apoio [éticos/legais/comerciais] não estão disponíveis.	-	
Dados não disponíveis - consentimento do participante	Os participantes neste estudo não deram consentimento escrito para que os seus dados fossem partilhados publicamente, pelo que, devido à natureza sensível da investigação, os dados de apoio não estão disponíveis.	-	

O Orientando: _____ Data: __/__/____

O Orientador: _____ Data: 17/06/2026



Assinado por: Carolina de
 Andrade Lima Chaves
 Identificação: 8132715240
 Data: 2026-06-17 às 14:32:29

O Coorientador: _____ Data: 17/06/2026

Assinado por: **Maria Madalena Seabra de Oliveira**
Salema Cordeiro Oom
 Num. de Identificação: 06900189
 Data: 2026.06.17 12:12:02 +0100

RESUMO

Introdução: As resinas compostas são amplamente utilizadas na medicina dentária restauradora devido às suas propriedades estéticas e mecânicas. Contudo, a polimerização incompleta pode resultar na liberação de monómeros residuais potencialmente citotóxicos, comprometendo a biocompatibilidade destes materiais. Entre estes monómeros destaca-se o Bis-GMA. Mais recentemente, foram desenvolvidas resinas compostas sem Bis-GMA, incluindo materiais universais com *blending effect*, com o objetivo de melhorar a segurança biológica e otimizar o resultado estético. **Objetivo:** Avaliar, *in vitro*, o efeito citotóxico de quatro resinas compostas universais, comparando três resinas sem Bis-GMA: Vittra Unique (FGM), Omnicroma (Tokuyama) e Admira Fusion (VOCO), com uma contendo Bis-GMA, Grandio SO (VOCO). **Métodos:** A citotoxicidade foi avaliada na linha celular de fibroblastos 3T3, após exposição, por 24 h, a extratos e respectivas diluições, preparados a partir de espécimes de cada resina. A viabilidade celular foi determinada através dos ensaios de MTT e de incorporação do vermelho neutro, de acordo com a norma ISO 10993. **Resultados:** Verificou-se uma relação dose-dependente entre a concentração dos extratos e a viabilidade celular, observando-se uma diminuição significativa desta em condições não diluídas e um aumento progressivo com as diluições. Nas maiores diluições, as resinas apresentaram valores elevados de viabilidade, sugerindo menor citotoxicidade em concentrações mais baixas dos extratos. Embora a resina Admira Fusion tenha apresentado os melhores resultados, não foi possível demonstrar, de forma consistente, uma menor toxicidade das resinas sem Bis-GMA relativamente à resina que o contém, tendo-se observado diferenças que poderão estar relacionadas com a formulação específica de cada resina. **Conclusões:** A citotoxicidade das resinas compostas avaliadas parece depender da sua composição, não sendo determinada exclusivamente pela presença ou ausência de Bis-GMA. A avaliação da biocompatibilidade destes materiais deve considerar a sua formulação global.

Palavras-chave: Resinas compostas; Citotoxicidade *in vitro*; Bis-GMA; Fibroblastos 3T3.

ABSTRACT

Introduction: Composite resins are widely used in restorative dentistry due to their aesthetic and mechanical properties. However, incomplete polymerization can result in the release of potentially cytotoxic residual monomers, compromising the biocompatibility of these materials. Among these monomers, Bis-GMA stands out. More recently, Bis-GMA-free composite resins have been developed, including universal resins with a chameleon effect, with the aim of improving biological safety and optimizing aesthetic results. **Objective:** To evaluate, *in vitro*, the cytotoxic effect of four universal composite resins, comparing three Bis-GMA-free resins, Vittra Unique (FGM), Omnicroma (Tokuyama), and Admira Fusion (VOCO), with one containing Bis-GMA, Grandio SO (VOCO). **Methods:** Cytotoxicity was evaluated in the 3T3 fibroblast cell line following 24-hour exposure to extracts and their respective dilutions, prepared from specimens of each resin. Cell viability was determined using the MTT and neutral red incorporation assays, in accordance with ISO 10993. **Results:** A dose-dependent relationship was observed between extract concentration and cell viability, with a significant decrease in viability under undiluted conditions and a progressive increase with dilutions. At the highest dilutions, the resins exhibited high viability values, suggesting lower cytotoxicity at lower extract concentrations. Although the Admira Fusion resin showed the best results, it was not possible to consistently demonstrate lower toxicity of Bis-GMA-free resins compared to the resin containing Bis-GMA; differences were observed that may be related to the specific formulation of each resin. **Conclusions:** The cytotoxicity of the evaluated composite resins appears to depend on their composition and is not determined exclusively by the presence or absence of Bis-GMA. The assessment of the biocompatibility of these materials should consider their overall formulation.

Keywords: Composite resins; *In vitro* cytotoxicity; Bis-GMA; 3T3 fibroblasts.

ÍNDICE GERAL

I	INTRODUÇÃO	11
I.1	Resinas compostas em medicina dentária.....	11
I.1.1	Indicações clínicas.....	11
I.1.2	Composição das resinas compostas.....	12
I.1.3	Sistema fotoiniciador e polimerização.....	14
I.2	Limitações das resinas compostas – Conversão incompleta dos monómeros em polímeros.....	14
I.2.1	Polimerização incompleta.....	14
I.2.2	Libertação de substâncias.....	15
I.2.3	Vias de exposição no organismo.....	15
I.3	Biocompatibilidade	16
I.3.1	Conceito de biocompatibilidade	16
I.3.2	O papel do Bisfenol A (BPA).....	16
I.3.3	Resinas livres de BPA	17
I.3.4	Resinas com <i>blending effect</i>	17
I.3.5	Limitações atuais	18
I.4	Avaliação da citotoxicidade <i>in vitro</i>	18
I.5	Justificação do estudo.....	19
I.6	Objetivo e hipóteses	19
II	MATERIAIS	21
III	MÉTODOS: ENSAIO DE COMPATIBILIDADE CELULAR	23
III.1	Cultura celular.....	23
III.2	Preparação dos espécimes e obtenção dos extratos.....	23
III.3	Exposição celular aos extratos.....	25
III.4	Realização do teste de MTT	26
III.5	Realização do teste de vermelho neutro.....	27
IV	RESULTADOS	29
IV.1	Efeito das resinas compostas na viabilidade celular dos fibroblastos 3T3 pelo teste de MTT.....	29
IV.2	Efeito das resinas compostas na viabilidade dos fibroblastos 3T3 pelo teste de VN 33	
V	DISCUSSÃO.....	35
VI	CONCLUSÕES	41
VII	BIBLIOGRAFIA.....	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Resinas compostas avaliadas no âmbito do estudo: Vittra Unique (A), Omnicroma (B), Admira Fusion (C) e Grandio SO (D).....	20
Figura 2. Moldes metálicos e fotopolimerizador, utilizados nos ensaios	22
Figura 3. Resinas compostas no interior dos moldes, após fotopolimerização	22
Figura 4. Espécimes em processo de esterilização na câmara de fluxo laminar	23
Figura 5. Formação inicial de cristais de formazan observada após incubação com MTT, indicativa de atividade metabólica celular.	24
Figura 6. Viabilidade das células 3T3 após contacto com os extratos das resinas, determinada pelo teste de MTT (Vu: Vittra Unique, Ad: Admira Fusion, Oc: Omnicroma, Gs: Grandio SO, e os controlos negativo C- e positivo C+). As barras representam valores médios $\pm$ desvio padrão. 26	
Figura 7. Imagens representativas de um dos ensaios de MTT, onde foram utilizados extratos diluídos após incubação com MTT e antes da solubilização dos cristais de formazan (Vu: Vittra Unique, Ad: Admira Fusion, Gs: Grandio SO, Oc: Omnicroma, e os controlos negativo C- e positivo C+, ampliação de X100, escala representada pela barra azul no canto inferior direito corresponde a 100 μ m).....	27
Figura 8. Viabilidade das células 3T3 expostas aos extratos das resinas (e respetivas diluições) determinada pelo teste de MTT (Vu: Vittra Unique, AD: Admira Fusion, Oc: Omnicroma, GS: Grandio SO, e os controlos negativo C- e positivo C+). O limiar de viabilidade de 70 % estabelecido pela norma ISO 10993-5 é representado pela linha rosa. As barras representam valores médios $\pm$ desvio padrão de 8 replicas, em pelo menos, dois ensaios distintos	28
Figura 9. Viabilidade celular das células 3T3 expostas aos extratos das resinas determinada pelo teste do vermelho neutro (Vu: Vittra Unique, Ad: Admira Fusion, Oc: Omnicroma, Gs: Grandio SO, e os controlos negativo C- e positivo C+). As barras representam os valores médios $\pm$ desvio padrão.....	30
Figura 10. Viabilidade celular das células 3T3 expostas aos extratos das resinas (e respetivas diluições) determinada pelo teste do vermelho neutro (Vu: Vittra Unique; Oc: Omnicroma, Ad: Admira Fusion e Gs: Grandio SO). O limiar de viabilidade celular de 70 % estabelecido pela norma ISO 10993-5 é representado pela linha rosa. As barras representam os valores médios $\pm$ desvio padrão de 8 replicas em, pelo menos, dois ensaios distintos	31

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Materiais testados, fabricantes e composições.	20
Tabela 2. Comparação da biocompatibilidade das resinas compostas (teste de MTT)	29

LISTA DE ABREVIATURAS

Bis-GMA – Bisfenol A Glicidil Metacrilato

UDMA – Uretano de Dimetacrilato

TEGDMA – Trietilenoglicol de Dimetacrilato

ORMOCER – *Organically Modified Ceramic*

LED – Díodo Emissor de Luz

HEMA – 2-Hidroxietil Metacrilato

BPA – Bisfenol A

Gs– Resina composta nanohíbrida Grandio SO

Ad – Resina composta ORMOCER Admira Fusion

Vu – Resina composta Vittra Unique

Oc – Resina composta Omnicroma

MTT – 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo

VN – Vermelho Neutro

DMEM – *Dulbecco's Modified Eagle Medium*

SFB – Soro Fetal Bovino

EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético

ISO – *International Organization for Standardization*

DMSO – Dimetilsulfóxido

TSA – *Tryptic Soy Agar*

PBS – *Phosphate Buffered Saline*

I INTRODUÇÃO

I.1 Resinas compostas em medicina dentária

I.1.1 Indicações clínicas

As resinas compostas são amplamente utilizadas na medicina dentária restauradora devido às suas propriedades estéticas e mecânicas, permitem uma abordagem minimamente invasiva, com boa adesão aos tecidos dentários e excelente integração estética (Riva & Rahman, 2019). De facto, as resinas compostas são amplamente utilizadas no tratamento de lesões cariosas, pequenas fraturas coronárias e restaurações estéticas; o seu desenvolvimento permitiu uma evolução significativa das abordagens clínicas, passando de técnicas invasivas para procedimentos mais conservadores, com o objetivo de preservar ao máximo os tecidos dentários saudáveis (Ilie & Hickel, 2011).

Uma das principais vantagens destes materiais são suas propriedades estéticas, uma vez que oferecem uma vasta gama de tonalidades, opacidades e níveis de translucidez, permitindo uma excelente imitação dos tecidos dentários naturais (Ilie & Hickel, 2011). Além disso, as resinas compostas, quando utilizadas com sistemas adesivos, apresentam propriedades adesivas o que permite uma ligação micromecânica aos tecidos dentários (Ilie & Hickel, 2011). Esta adesão contribui não só para a retenção da restauração, mas também para uma melhor distribuição das tensões e para o reforço da estrutura dentária residual (Pratap et al., 2019).

Finalmente esses materiais permitem uma abordagem minimamente invasiva, pois não exigem preparação cavitária extensa, ao contrário dos materiais restauradores tradicionais, como por exemplo o amálgama; essa característica está totalmente alinhada com os princípios atuais da dentisteria conservadora, que visam preservar o máximo possível o tecido dentário e garantir a durabilidade das restaurações (Ilie & Hickel, 2011; Pratap et al., 2019; Riva & Rahman, 2019).

I.1.2 Composição das resinas compostas

As resinas compostas são materiais complexos constituídos por vários elementos com funções bem definidas; a sua estrutura divide-se em três fases principais: uma fase orgânica (matriz resinosa), uma fase inorgânica (partículas de cargas) e um agente de união (silano) (Raskin & Lehmann, 2009).

I.1.2.1 Fase orgânica (matriz orgânica)

A matriz orgânica, polímero que liga as partículas de cargas minerais e polimeriza sob o efeito da luz visível, é sujeita a contração de polimerização, sendo composta principalmente por monómeros metacrílicos, tais como:

- O bisfenol A glicidil metacrilato (Bis-GMA), que é o principal componente das resinas compostas, responsável por proporcionar boa estabilidade química e mecânica, contudo, é muito viscoso;

- O dimetacrilato de uretano (UDMA), que é uma alternativa ao Bis-GMA. É um monómero menos viscoso e mais flexível, o que facilita o manuseamento da resina composta;

- O dimetacrilato de trietilenoglicol (TEGDMA), que é um monómero mais fluido, é quando adicionado a resina reduz a viscosidade da mistura e melhorar a capacidade de manuseio (Berthault et al., 2008; Raskin & Lehmann, 2009).

I.1.2.2 Fase inorgânica (partículas de cargas)

As partículas de cargas de reforço são cargas minerais que têm várias funções por exemplo, melhoram a resistência mecânica, reduzem a contração de polimerização e influenciam a opacidade e a radiopacidade do material (Chaput & Faure, 2018). As partículas de cargas utilizadas são:

- O quartzo, que é um material muito resistente, mas raramente é utilizado;
- A sílica coloidal, que está presente sob a forma de nanopartículas nos compósitos e melhora a capacidade de polimento destes materiais;

- Vidros de silicato de bário, alumínio ou estrôncio, que proporcionam radiopacidade, facilitando a detecção das restaurações nos raios X;

- Óxido de zircônia, que é utilizado em compósitos nano-híbridos para aumentar a resistência mecânica e a durabilidade do compósito (Berthault et al., 2008; Chaput & Faure, 2018);

O tamanho das cargas inorgânicas influencia as propriedades das resinas compostas e permitem que as resinas sejam classificadas em várias categorias:

- Compósitos macroparticulados, nos quais as partículas medem mais de um micrómetro, são muito resistentes, mas difíceis de polir;

- Compósitos microhíbridos, cujas partículas medem menos de 0,1 micrómetros, oferecem excelentes resultados estéticos e um bom polimento, mas são menos resistentes do ponto de vista mecânico;

- Compósitos nanohíbridos que combinam diferentes tamanhos de cargas para se obter boa resistência mecânica e estética (Chaput & Faure, 2018; Ilie & Hickel, 2011).

1.1.2.3 Agente de ligação (silano)

Para assegurar a ligação entre as partículas de cargas minerais e a matriz orgânica, é adicionado o silano como agente de união. O silano é uma molécula que melhora a coesão e a resistência mecânica do compósito, reforça a adesão entre a matriz orgânica e as partículas de cargas; o que contribui para uma maior durabilidade do material. No entanto, tende a deteriorar-se com o tempo, o que pode levar a uma perda de adesão (Raskin & Lehmann, 2009; Chaput & Faure, 2018; Berthault et al., 2008).

I.1.3 Sistema fotoiniciador e polimerização

Por fim, as resinas compostas polimerizam sob a ação da luz visível geralmente emitida por uma lâmpada Díodo Emissor de Luz (LED) num intervalo de 400–500 nm (fotopolimerização), esta luz ativa um fotoiniciador que desencadeia a polimerização do compósito e, portanto, o seu endurecimento na cavidade oral; o fotoiniciador mais comumente utilizado é a canforoquinona, que é sensível à luz azul (Pratap et al., 2019).

I.2 Limitações das resinas compostas – Conversão incompleta dos monómeros em polímeros

I.2.1 Polimerização incompleta

A polimerização das resinas compostas nem sempre é completa, resultando na presença de monómeros residuais não convertidos (Romo-Huerta et al., 2021). A origem deste fenómeno de libertação a partir de superfícies livres deve-se ao grau de conversão da polimerização, que é significativamente inferior a 100% do volume total, sendo ainda mais baixo na interface dente/material ou na superfície livre da resina composta; os monómeros residuais, que não foram convertidos em polímeros, são libertados na cavidade oral com efeito potencialmente citotóxico (Lempel et al., 2014).

Devido aos avanços promovidos pela indústria, a percentagem de monómeros não ligados tem vindo a diminuir nos últimos anos, mas o problema ainda não foi erradicado; até à data, não existem resinas compostas com conversão total dos monómeros em polímeros durante a polimerização (Odabasi et al., 2024). É de esperar que, no final da polimerização inicial, a maior parte dos monómeros reaja com a rede polimérica e a quantidade de monómeros residuais seja inferior a 1,5–5% (Gupta et al., 2012; Odabasi et al., 2024). No entanto, isto é suficiente para contribuir para efeitos citotóxicos importantes.

I.2.2 Liberação de substâncias

Por causa desta polimerização incompleta, podem ser libertados na cavidade oral, principalmente nas primeiras horas, monómeros não polimerizados, aditivos não ligados e/ou produtos de degradação dos polímeros. que podem ser citotóxicos em contato com células humanas (Lopes-Rocha et al., 2021; Tkáčiková & Sabo, 2023). Estudos demonstram que a citotoxicidade é maior nas primeiras 24 horas, devido à liberação de maior quantidade de monómeros residuais não polimerizados, como Bis-GMA, UDMA, TEGDMA e HEMA (2-Hidroxietil Metacrilato). Após 48 horas, embora ainda presente, observa-se geralmente uma redução da citotoxicidade em razão da diminuição progressiva da liberação desses componentes (Wiertelak-Makala et al., 2023). Os efeitos a longo prazo, no entanto, também devem ser levados em consideração (Gupta et al., 2012).

Devido à inibição da reação de polimerização produzida pelo oxigénio do ar e/ou pelo oxigénio absorvido nas superfícies livres, o grau de conversão diminui até 20% (Gupta et al., 2012). Por conseguinte, quanto maior for a superfície do material, maior será o efeito de toxicidade; também foi demonstrado que a superfície livre das resinas compostas expostas ao oxigénio durante a polimerização produz uma camada superficial não polimerizada que também contém formaldeído, o que constitui um elemento adicional de citotoxicidade (Gupta et al., 2012; Lempel et al., 2014).

I.2.3 Vias de exposição no organismo

Para além do contacto direto com os tecidos da cavidade oral, as resinas compostas utilizadas na prática clínica libertam monómeros a nível sistémico; a ingestão de substâncias libertadas no trato gastrointestinal, a inalação de componentes voláteis a nível pulmonar, a absorção direta pela mucosa oral e a difusão para a polpa dentária através dos túbulos dentinários, são as diferentes vias de absorção destas substâncias químicas potencialmente tóxica ao organismo (Wataha, 2001; Gupta et al., 2012; Tkáčiková & Sabo, 2023).

I.3 Biocompatibilidade

I.3.1 Conceito de biocompatibilidade

De facto, a biocompatibilidade constitui um critério fundamental na escolha e utilização de materiais na medicina dentária. Biocompatibilidade define-se como a capacidade de um material interagir com os tecidos biológicos sem induzir efeitos indesejáveis, garantindo simultaneamente a sua função clínica; na medicina dentária, este conceito é particularmente importante devido ao contacto prolongado dos materiais com os tecidos bucais (Wataha, 2001).

Além disso, a avaliação da biocompatibilidade é essencial para orientar o desenvolvimento de novos biomateriais e melhorar a segurança dos tratamentos dentários; permite nomeadamente identificar os mecanismos de toxicidade e otimizar as formulações dos materiais (Woźniak-Budych et al., 2023).

I.3.2 O papel do Bisfenol A (BPA)

Atualmente, a investigação centra-se na melhoria da biocompatibilidade, reduzindo a presença de Bis-GMA nas resinas (Chaput & Faure, 2018). O Bisfenol A (BPA - os monómeros como Bis-GMA e Bis-DMA são derivados da molécula BPA) que é um disruptor endócrino com efeito estrogénico, podendo interferir no equilíbrio hormonal ao ligar-se aos recetores de estrogénio (Tkáčiková & Sabo, 2023; Born, 2024). Também é comprovado que o BPA é capaz de interferir em processos celulares tal como: promover *stress* oxidativo, apoptose e alterações metabólicas celulares; estudos *in vitro* demonstraram diminuição da viabilidade celular após exposição a monómeros derivados de BPA libertados por resinas compostas (Dursun et al., 2016; Lopes-Rocha et al., 2021). As crianças e as gestantes representam grupos mais suscetíveis aos possíveis efeitos adversos do BPA, mesmo em baixas concentrações, devido à sua atividade hormonal e potencial de toxicidade sistémica (Fleisch et al., 2010; Maserejian et al., 2012; Dursun et al., 2016; Marzouk et al., 2019).

Na medicina dentária, o BPA pode estar presente em pequenas quantidades em determinadas resinas compostas, como é o caso da Grandio SO (Gul et al., 2021). Embora os níveis libertados sejam geralmente baixos, vários estudos demonstraram que materiais resinosos contendo Bis-GMA podem constituir uma fonte de exposição ao BPA, apresentando uma libertação mais elevada deste composto quando comparados com materiais formulados sem derivados de BPA (Šimková et al., 2020; Tichy et al., 2022).

I.3.3 Resinas livres de BPA

Na tentativa de reduzir riscos aos pacientes estão a ser explorados e estudados materiais livres de BPA, que utilizam como alternativas UDMA e TEGDMA para a matriz orgânica das resinas compostas (Papakonstantinou et al., 2013), como por exemplo, as resinas Admira Fusion, Vittra Unique e Omnicroma. Estes materiais trazem como benefício importante maior biocompatibilidade, reduzindo riscos de interferência endócrina e menor preocupação com a libertação de BPA sem comprometer estética e resistência mecânica (Çadircı et al., 2025; Reda et al., 2023).

I.3.4 Resinas com *blending effect*

Paralelamente à preocupação com a biocompatibilidade, está em curso a investigação de biomateriais cada vez mais inovadores em termos de estética. Recentemente está a ser desenvolvida uma nova gama de resinas compostas, as resinas com *blending effect* como Vittra Unique e Omnicroma, com o intuito de facilitar a estética das restaurações (Silva et al., 2023; Oliveira et al., 2024; De Araújo Guimarães et al., 2024). As resinas universais com *blending effect* são um tipo de material restaurador que se adapta à cor do dente natural, minimizando a necessidade de múltiplas tonalidades. Este efeito ocorre devido à tecnologia de difusão de luz que permite que a resina interaja com a estrutura dentária ao redor, proporcionando uma transição de cor mais natural (Chaple Gil et al., 2025; Yilmaz et al., 2025; Chang et al., 2025). Desta forma, estas resinas são indicadas principalmente para restaurações diretas anteriores e posteriores

com enfoque na estética, onde a harmonização da cor é essencial; De acordo com Fathpour et al. (2024) e Santana et al. (2025), estes materiais apresentam como vantagens uma maior biocompatibilidade, por não conter na sua composição o BPA, além de propriedades estéticas e mecânicas adequadas.

I.3.5 Limitações atuais

É importante notar que o facto de uma resina ter um *blending effect*, ou seja, uma estética superior, não significa que seja mais biocompatível do que uma resina clássica (Erdal & Karadag, 2025). Além disso, apesar da ausência de BPA em alguns materiais, a citotoxicidade pode persistir devido à presença de outros monómeros, como UDMA ou TEGDMA, sugerindo que a biocompatibilidade: depende da formulação global do material e que requer estudos experimentais mais aprofundados (Deng et al., 2024).

I.4 Avaliação da citotoxicidade *in vitro*

A biocompatibilidade dos materiais baseia-se frequentemente em estudos *in vitro*, que permitem avaliar a citotoxicidade em condições controladas e reprodutíveis; de facto trata-se de uma ferramenta essencial para a avaliação da citotoxicidade, uma vez que permite um controlo preciso das condições experimentais e a padronização dos protocolos, favorecendo assim a reprodutibilidade dos resultados. A utilização de procedimentos padronizados permite obter resultados sólidos e comparáveis, tornando os ensaios *in vitro* uma etapa fundamental na avaliação pré-clínica de biomateriais e substâncias químicas (Eder et al., 2022).

I.5 Justificação do estudo

Apesar dos avanços da medicina dentária no desenvolvimento de resinas compostas mais estéticas e seguras, a sua biocompatibilidade continua a ser objeto de controvérsia, nomeadamente no que diz respeito aos materiais sem BPA e ao desenvolvimento de resinas compostas monocromáticas; os dados atuais continuam a ser heterogêneos e não permitem concluir que haja uma melhoria da biocompatibilidade, sublinhando assim a necessidade de prosseguir com a investigação experimental *in vitro* para avaliar os seus efeitos citotóxicos (De Angelis et al., 2021).

Vários estudos publicados na literatura avaliaram a citotoxicidade de diferentes resinas compostas universais sem Bis-GMA e evidenciaram variações na biocompatibilidade dos materiais. No entanto, nenhum deles comparou simultaneamente as quatro resinas compostas selecionadas no âmbito deste trabalho (Beltrami et al., 2021; Schubert et al., 2019; Erdal & Karadag, 2025).

I.6 Objetivo e hipóteses

O objetivo do presente estudo foi de avaliar *in vitro* a biocompatibilidade de três resinas compostas universais sem Bisfenol A (Vittra Unique e Omnicroma, que são resinas com *blending effect*, e Admira Fusion) e uma resina composta com Bisfenol A (Grandio SO). A viabilidade celular será determinada numa linha celular imortalizada de fibroblastos na presença de extratos obtidos com 24hrs de incubação a partir de cada uma destas resinas.

A hipótese nula (H0) é que não existem diferenças significativas na citotoxicidade entre as resinas testadas; e a hipótese alternativa (H1) é que existe uma diferença significativa na citotoxicidade entre os materiais, sendo que pelo menos uma resina apresenta melhor biocompatibilidade.

II MATERIAIS

A Tabela 1 e Figura 1 contem a caracterização dos materiais testados.

Tabela 1. Materiais testados, fabricantes e composições.

Resina	Fabricante	Tipo de resina	Cargas inorgânicas	Matriz orgânica	Sistema fotoiniciador	Fotoiniciador principal	Outros componentes
Vittra Unique	FGM (Brasil)	Nanoparticulada	Partículas de sílica e zircônia; vidro borossilicato de alumínio	Mistura de monômeros metacrilatos (UDMA, TEGDMA)	APS (Advanced Polymerization System)	Canforquinona	Co-iniciadores; estabilizadores; silano
Omnichroma	Tokuyama (Japão)	Nanohíbrida	Partículas esféricas supra-nanométricas de $\text{SiO}_2\text{-ZrO}_2$ (~260 nm)	Mistura de monômeros metacrilatos (UDMA, TEGDMA)	Sistema de fotopolimerização convencional	Canforquinona	Mequinal; dibutil-hidroxitolueno (BHT); absorvedor de UV
Admira Fusion	VOCO (Alemanha)	Nanohíbrida (ORMOCER)	Nanopartículas de óxido de silício (SiO_2) e cargas vitrocerâmicas (silicato de bário e alumínio)	Matriz ORMOCER (organo-inorgânica)	Sistema à base de canforquinona	Canforquinona	Estabilizadores; pigmentos corantes
Grandio SO	VOCO (Alemanha)	Nanohíbrida	Vidro de bário-alumínio-borosilicato; dióxido de silício (SiO_2)	Resina metacrílica (Bis-GMA, TEGDMA e co-monômeros)	Sistema à base de canforquinona	Canforquinona	Estabilizadores; pigmentos corantes

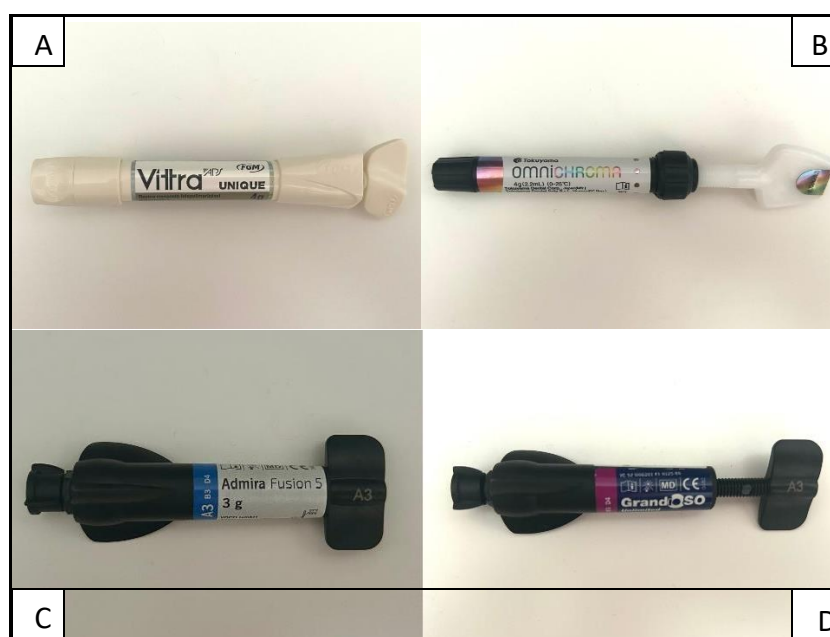


Figura 1. Resinas compostas avaliadas no âmbito do estudo: Vittra Unique (A), Omnichroma (B), Admira Fusion (C) e Grandio SO (D)

III MÉTODOS: ENSAIO DE COMPATIBILIDADE CELULAR

III.1 Cultura celular

Para este ensaio foi utilizada a linhagem celular de fibroblastos embrionários de rato suíço NIH/3T3 (93061524 Sigma-Aldrich). As células foram cultivadas em meio *Dulbecco's Modified Eagle Medium*, high glucose (DMEM, Biowest), suplementado com soro fetal bovino (SFB) a 10 %, (Sigma-Aldrich) e de penicilina-estreptomicina a 1% (10000U/mL penicilina e 10 mg/mL streptomycin, Sigma-Aldrich), sendo mantidas a 37 °C numa atmosfera humidificada com 5 % de CO₂.

A subcultura celular foi realizada de acordo com um protocolo standard. Após remoção do meio de cultura, a monocamada celular foi lavada com *Phosphate Buffered Saline* (PBS, Sigma) e tratada com solução de tripsina-EDTA (Ácido etilenodiaminotetracético, Sigma), de forma a promover o desprendimento celular. A ação da tripsina foi neutralizada pela adição de meio DMEM completo, sendo a suspensão celular homogeneizada por pipetagem suave.

A densidade celular foi determinada por contagem das células em hemocítmetro após coloração com azul de tripano (1:1). A suspensão celular foi ajustada de modo a permitir a sementeira de 1×10^4 células por poço em placas de 96 poços.

As células foram semeadas em placas de 96 poços e incubadas a 37 °C, em atmosfera humidificada com 5 % de CO₂, durante 24 horas, permitindo a adesão celular e proliferação. O desenho experimental da placa incluiu 3 replicas para cada condição de teste e três replicas para o controlo sem células.

III.2 Preparação dos espécimes e obtenção dos extratos

Foram preparados três espécimes por material de resina composta, utilizando moldes metálicos (10 mm de diâmetro e 1 mm de espessura), previamente esterilizados (figura 2).

As resinas compostas foram colocadas nos moldes entre placas de vidro esterilizadas (figura 3), cobertas com folhas de acetato e fotopolimerizadas durante 20 segundos com um fotopolimerizador LED (COXO DB686-1b). Após polimerização, os espécimes foram removidos e armazenados em condições assépticas.



Figura 2. Moldes metálicos e fotopolimerizador, utilizados nos ensaios.



Figura 3. Resinas compostas no interior dos moldes, após fotopolimerização.

Os espécimes foram posteriormente submetidos a esterilização por radiação ultravioleta em câmara de fluxo laminar, durante 20 minutos para cada lado (figura 4).

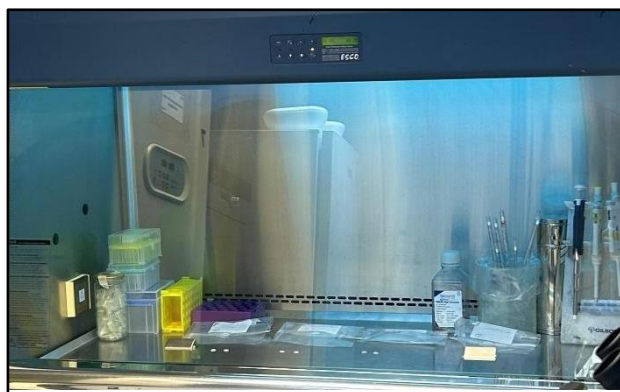


Figura 4. Espécimes em processo de esterilização na câmara de fluxo laminar.

Os extratos foram obtidos por incubação dos espécimes em meio de cultura com concentração reduzida de SFB (DMEM, 5% SFB) a 37 °C e 5 % de CO₂, durante 24 horas utilizando uma razão de superfície/volume de 3 cm²/mL, de acordo com a norma *International Organization for Standardization* (ISO) 10993-12:2021.

Foram também preparadas diluições sucessivas dos extratos nas seguintes proporções: 1:2; 1:4; 1:8 e 1:16. em DMEM, SFB 5%.

III.3 Exposição celular aos extratos

O ensaio foi realizado de acordo com a norma ISO 10993-5:2009. Após 24 horas, o meio de cultura foi removido e substituído pelos extratos obtidos das diferentes resinas compostas ou pelas suas diluições. Foram incluídos controlos negativos (células incubadas com meio de cultura não exposto às resinas compostas) e controlos positivos (meio de cultura suplementado com DMSO 10 %).

As células foram incubadas por 24 horas em contato com os extratos. Este período foi selecionado por constituir um tempo standard amplamente utilizado em ensaios *in vitro*, o que permite a avaliação das alterações precoces no metabolismo celular e viabilidade (Freshney, 2010). Além disso, o período do ciclo celular dura tipicamente cerca de 24 h (Bieler et al., 2014). Após a exposição, procedeu-se à observação microscópica das células (*Inverted microscope* LEYCA®) para avaliar a morfologia, densidade e adesão celular.

Durante esta observação, foram identificadas partículas em todas as condições experimentais. De forma a excluir contaminação bacteriana, foi realizado um ensaio em meio TSA (*Tryptic Soy Agar*), incubado a 37 °C, não tendo sido observado crescimento bacteriano, confirmando a ausência de contaminação microbiológica.

III.4 Realização do teste de MTT

Para o teste de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo), o meio de cultura foi removido. Seguidamente, foi adicionada solução de MTT a 0,5 mg/mL (preparada por diluição 1:10 da solução stock de MTT em meio de cultura sem soro). As placas foram incubadas durante três horas nas mesmas condições a 37°C, permitindo a formação de cristais de formazan pelas células metabolicamente ativas (Figura 5.).

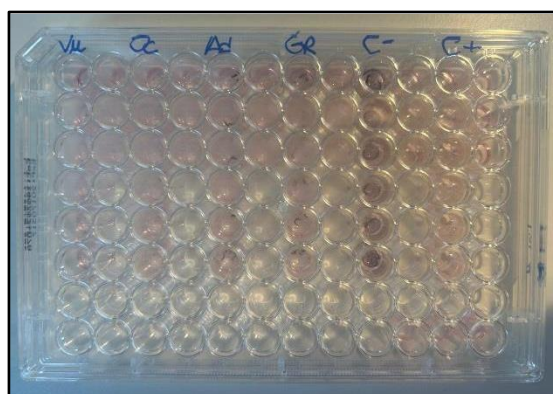


Figura 5. Formação inicial de cristais de formazan observada após incubação com MTT, indicativa de atividade metabólica celular.

Após incubação, os cristais de formazan foram solubilizados com isopropanol contendo IGEPAL 0.1% e HCl 4 mM. As placas foram agitadas durante aproximadamente 1 hora para garantir solubilização completa.

A absorvância foi medida a 565 nm utilizando um leitor de microplacas (Tecan Infinite 200 Pro).

III.5 Realização do teste de vermelho neutro

Com o objetivo de complementar a avaliação da citotoxicidade realizada pelo ensaio de MTT, foi efetuado o teste de vermelho neutro. Este método baseia-se na capacidade de as células viáveis incorporarem e acumularem o corante vermelho neutro nos lisossomas, sendo a quantidade de corante retido proporcional ao número de células viáveis e à sua atividade metabólica.

As condições experimentais, incluindo as diferentes diluições dos extratos das resinas compostas, bem como os procedimentos de cultura celular e exposição aos extratos, foram idênticos aos descritos no ensaio de MTT anterior (III. 1, III.2, III.3). A diferença metodológica consistiu na utilização do protocolo específico do ensaio de vermelho neutro para avaliação da viabilidade celular.

As células foram expostas aos extratos durante um período de 24 horas. Seguidamente, foram adicionados 100 μ L de meio contendo o corante de vermelho neutro a cada poço (40 mg/ml, preparado de véspera e centrifugado durante 10 minutos a 600g para remover os cristais que se tenham formado) a cada poço (Figura 6.). As placas foram incubadas durante 3 horas à 37°C, permitindo a incorporação do corante pelos lisossomas das células viáveis.

Após incubação, o meio contendo o corante foi removido e as células foram lavadas com PBS de forma a eliminar o corante não incorporado. Posteriormente, foi adicionado solvente contendo ácido acético 1%, e etanol 50% em água destilada para extração do corante acumulado no interior das células. Em seguida, as placas foram agitadas até completa dissolução do corante.

A absorvância foi medida a 540 nm utilizando um leitor de microplacas. Para a determinação da viabilidade, os valores médios da absorvância dos controlos sem células (branco) foram subtraídos de todos os valores de absorvância. Os dados finais representam o valor médio das replicas na presença do extrato, expressa em percentagem relativamente ao controlo negativo (condições ótimas, ou seja, células em contato com o meio de cultura). Foi considerado não citotóxico o limiar de 70% de viabilidade, de acordo com a norma ISO 10993-5.

IV RESULTADOS

IV.1 Efeito das resinas compostas na viabilidade celular dos fibroblastos 3T3 pelo teste de MTT

Os resultados obtidos (Figura 6) mostram que a resina Admira Fusion destaca das outras três com uma taxa de viabilidade celular (68%) próxima do limiar de 70% de não toxicidade (ISO 10993-5) enquanto a resina Grandio SO parece ser moderadamente citotóxica (52%), a Omnicroma (32%) e a Vittra Unique (13%) foram considerados fortemente citotóxicas.

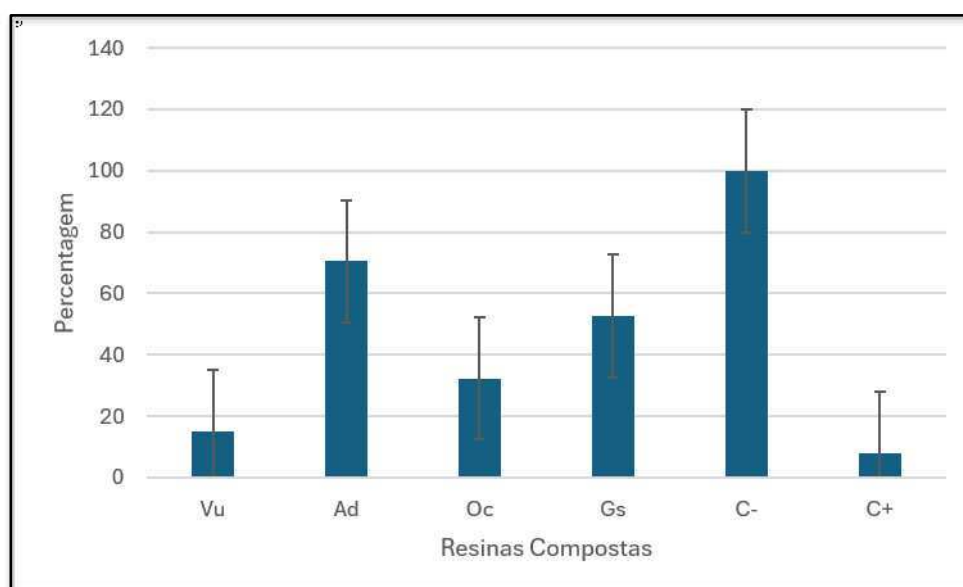


Figura 6. Viabilidade das células 3T3 após contacto com os extratos das resinas, determinada pelo teste de MTT (Vu: Vittra Unique, Ad: Admira Fusion, Oc: Omnicroma, Gs: Grandio SO, e os controlos negativo C- e positivo C+). As barras representam os valores médios $\pm$ desvio padrão.

Dada a baixa biocompatibilidade observada com as resinas Omnicroma e Vittra Unique, os extratos das resinas compostas obtidos com 24 horas, foram diluídos para permitir uma melhor comparação entre elas. As diluições também permitem simular melhor as condições reais, nomeadamente a ação da saliva na boca. A Figura 7. mostra imagens da observação microscópica do resultado do teste de MTT. As imagens revelam uma toxicidade dependente da dose. Nas células expostas aos extratos mais concentrados, observam-se algumas alterações morfológicas características de um efeito citotóxico. As células

apresentam-se então arredondadas, aglomeradas e menos numerosas, refletindo uma diminuição da adesão celular. Ainda assim, deteta-se atividade metabólica evidenciada pela cor roxa dos cristais de formazan. Para maiores diluições, estas alterações tornam-se menos acentuadas. As células apresentam progressivamente uma morfologia mais espalhada e aderente, e tendem a organizar-se numa monocamada celular mais homogênea, semelhante à observada nas condições de controlo negativo (C-).

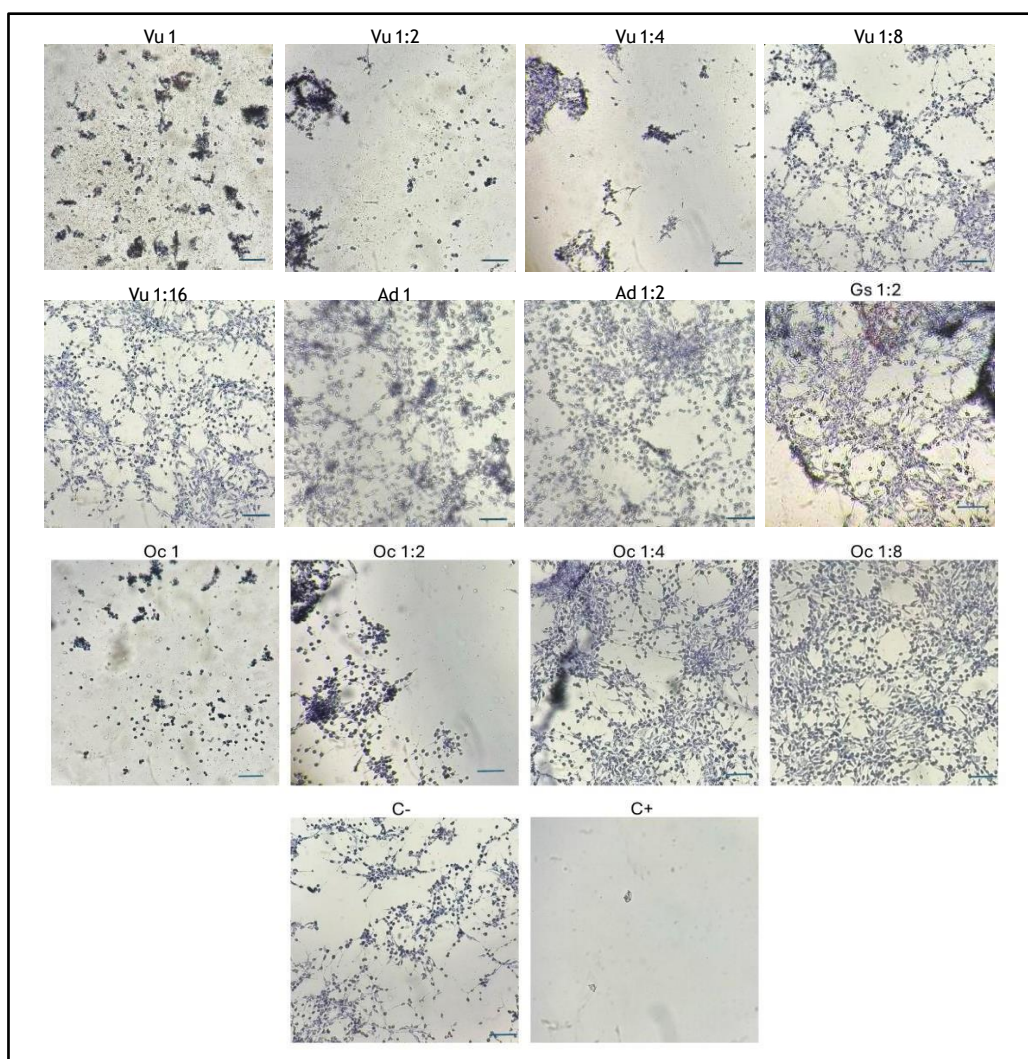


Figura 7. Imagens representativas de um dos ensaios de MTT, onde foram utilizados extratos diluídos após incubação com MTT e antes da solubilização dos cristais de formazan (Vu: Vittra Unique, Ad: Admira Fusion, Gs: Grandio SO, Oc: Omnicroma, e os controlos negativo C- e positivo C+, ampliação de X100, escala representada pela barra azul no canto inferior direito corresponde a 100 µm).

O gráfico da Figura 8. mostra a viabilidade celular após exposição a quatro resinas compostas (Vu, Ad, Oc, Gs) em diferentes diluições comparadas com controlo negativo (C-) e positivo (C+).

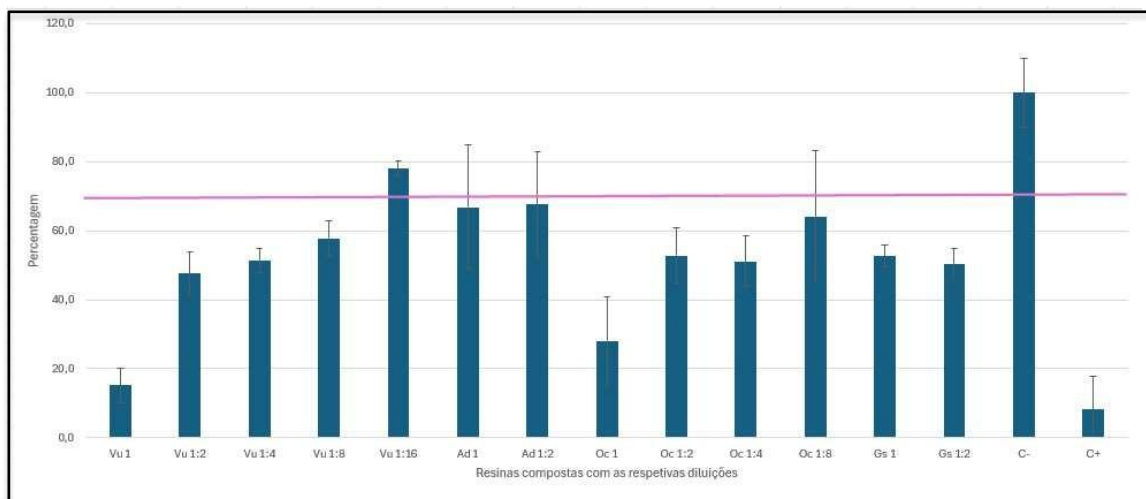


Figura 8. Viabilidade das células 3T3 expostas aos extratos das resinas (e respetivas diluições) determinada pelo teste de MTT (Vu: Vittra Unique, AD: Admira Fusion, Oc: Omnichroma, GS: Grandio SO, e os controlos negativo C- e positivo C+). O limiar de viabilidade de 70 % estabelecido pela norma ISO 10993-5 é representado pela linha rosa. As barras representam os valores médios $\pm$ desvio padrão de 8 réplicas, em pelo menos, dois ensaios distintos.

Tal como já se tinha verificado nas imagens, quanto maior a diluição maior a viabilidade celular. Isto é, quanto mais baixa a concentração do extrato, mais baixa a concentração dos monómeros libertados, menor é a sua toxicidade.

As diluições da resina Ad1 (68%) e Ad1:2 (69%) apresentam valores de viabilidade próximas do limiar de 70% (linha horizontal rosa no gráfico 9) e tendo em conta os desvios padrão podem ser consideradas aceitáveis. A resina Gs, apenas testada a diluição 1:2, apresenta um valor citotóxico (50%). A resina OC e VU aproximam-se do limiar para a diluição 1:8 (63% e 58% respetivamente) e para VU apenas com a diluição Vu1:16 se obtém uma condição não citotóxica (78%) (Tabela 2.). Algumas condições têm desvios-padrão grandes, o que indica variabilidade entre réplicas e obriga a cautela na comparação das resinas.

De acordo com estes resultados a resina Admira Fusion apresenta um perfil mais biocompatível, seguida da Grandio SO, Omnichroma e por fim Vittra Unique

Tabela 2. Comparação da biocompatibilidade das resinas compostas (teste de MTT).

Resinas Compostas	Diluição que provoca uma resposta de ~70%
Vittra Unique	1:16 (78%)
Omnichroma	1:8 (63 %)
Grandio SO	Não atinge, mas 1:2 50%
Admira Fusion	< 1:2 (68 %)

IV.2 Efeito das resinas compostas na viabilidade dos fibroblastos 3T3 pelo teste de VN

Para complementar a avaliação da viabilidade das células de fibroblastos 3T3 com o teste de MTT, foi também realizado o teste do vermelho neutro (Figura 9). A mesma resina composta, Admira Fusion, destaca-se das outras em termos de biocompatibilidade, não evidenciando qualquer sinal de toxicidade lisossomal (116%).

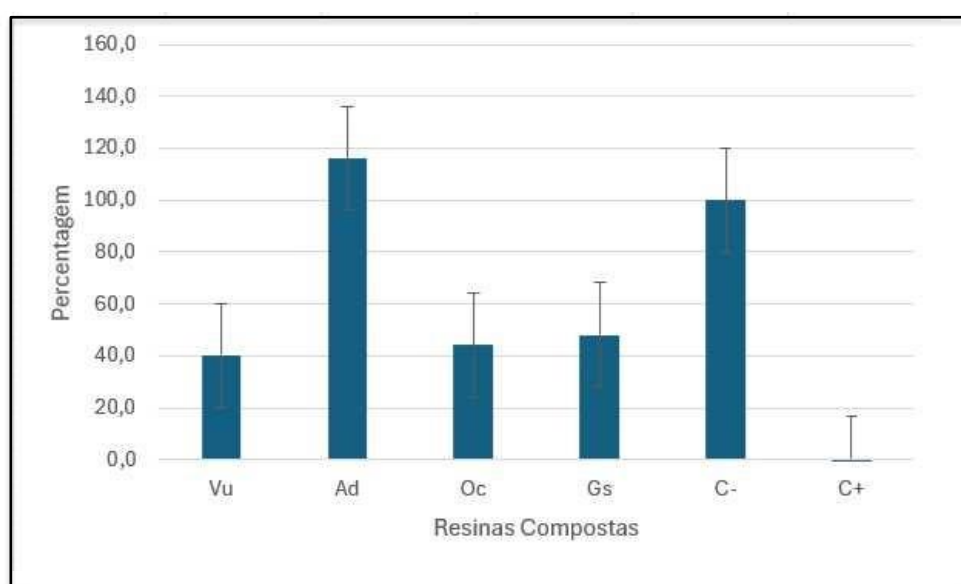


Figura 9. Viabilidade celular das células 3T3 expostas aos extratos das resinas determinada pelo teste do vermelho neutro (Vu: Vittra Unique, Ad: Admira Fusion, Oc: Omnicroma, Gs: Grandio SO, e os controlos negativo C- e positivo C+). As barras representam os valores médios $\pm$ desvio padrão.

Os extratos das resinas Vittra Unique e Omnicroma e Grandio SO, sem diluição, tal como nos ensaios de MTT, apresentam citotoxicidade moderada (40%, 43% e 46% respetivamente).

Tal como no teste de MTT, foram realizadas diluições de cada resina para os ensaios de VN (Figura 10), a fim de simular melhor as condições orais.

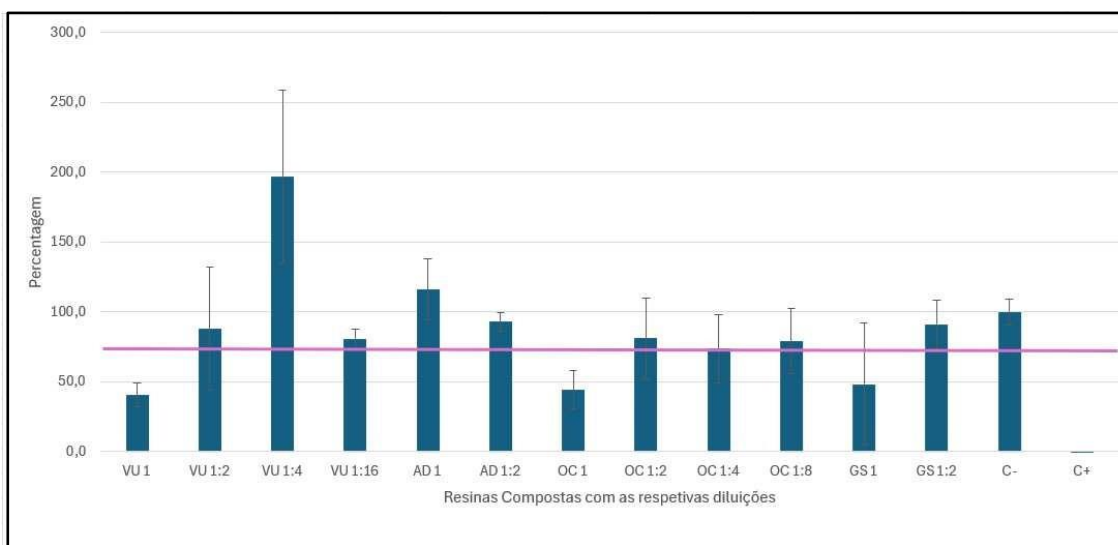


Figura 10. Viabilidade celular das células 3T3 expostas aos extratos das resinas (e respectivas diluições) determinada pelo teste do vermelho neutro (Vu: Vittra Unique; Oc: Omnicroma, Ad: Admira Fusion e Gs: Grandio SO). O limiar de viabilidade celular de 70 % estabelecido pela norma ISO 10993-5 é representado pela linha rosa. As barras os representam valores médios $\pm$ desvio padrão de 8 replicas em, pelo menos, dois ensaios distintos.

Os resultados mostram, nalguns casos, variabilidade elevada, ilustrada pelas barras de erro elevadas, o que limita a distinção entre as diferentes taxas de diluição e exige uma interpretação cautelosa. Ainda assim, podemos verificar que todas as diluições se encontram acima do limiar de 70%.

No geral, os resultados de viabilidade observados no teste do vermelho neutro são mais elevados do que os do teste de MTT, e as diluições necessárias para atingir o limiar tolerável de citotoxicidade são inferiores às necessárias para o teste de MTT.

Considerando os dois testes em conjunto, os resultados de biocompatibilidade são relativamente consistentes demonstrando a mesma hierarquia de biocompatibilidade: Admira Fusion é a resina mais biocompatível, seguida da Grandio SO, Omnicroma e por fim Vittra Unique. As resinas que apresentam maior citotoxicidade são a Vittra Unique e a Omnicroma.

V DISCUSSÃO

Os resultados permitiram identificar diferenças na biocompatibilidade entre as resinas compostas avaliadas, mantendo-se uma tendência semelhante nos dois ensaios realizados. A Admira Fusion destacou-se como o material com melhor compatibilidade biológico, seguida da Grandio SO e da Omnicroma, ao passo que a Vittra Unique apresentou a menor biocompatibilidade.

No presente estudo foram utilizados dois métodos complementares para a avaliação das resinas: o ensaio de MTT que mede a viabilidade metabólica mitocondrial (Mosmann, 1983), e o de vermelho neutro que dá informação a capacidade de as células incorporarem e acumularem o corante nos lisossomas (Repetto et al., 2008). Isto acontece em células viáveis com integridade membranar e lisossomal. Ambos os ensaios são amplamente utilizados na avaliação da citotoxicidade de materiais dentários, constituindo métodos recomendados pela norma ISO 10993-5 para a avaliação da viabilidade celular *in vitro*.

Foi observada uma diferença entre os resultados dos testes de MTT e de vermelho neutro. De um modo geral, os valores de viabilidade celular obtidos com o teste do vermelho neutro foram superiores aos observados com o ensaio de MTT. Esta diferença sugere que os componentes libertados pelas resinas compostas poderão afetar preferencialmente a atividade metabólica celular, sem comprometer de forma significativa a integridade celular nas condições experimentais utilizadas. Vários estudos demonstraram que os determinados monómeros residuais, nomeadamente dimetacrilatos como o Bis-GMA e o TEGDMA, podem induzir stress oxidativo e perturbar precocemente a função mitocondrial antes de provocarem alterações estruturais mais extensas (Lefeuvre et al., 2005; Flottes & Dursun, 2026). Assim, os resultados obtidos poderão traduzir um efeito predominantemente citostático, associado a uma diminuição da atividade metabólica ou proliferativa das células, mais do que um efeito citotóxico direto. No entanto, não se pode excluir que exposições mais prolongadas aos monómeros residuais conduzam posteriormente a alterações mais profundas da integridade celular e a um aumento da citotoxicidade. Estas observações reforçam a importância da utilização de métodos complementares

para uma avaliação mais abrangente da biocompatibilidade dos materiais dentários.

No primeiro ensaio realizado sem diluição dos extratos obtidos em 24 horas, os baixos valores de absorção observados não permitem considerar as resinas testadas como não citotóxicas; no entanto, estas condições experimentais correspondem ao pior cenário em que as células se mantêm expostas aos tóxicos por 24h e não reproduzem fielmente as condições clínicas reais (Deng et al., 2024). Com efeito, na cavidade oral, os monómeros libertados pelas resinas compostas são progressivamente diluídos pela saliva, pelos fluidos dentinários e pela renovação constante dos líquidos orais; os modelos *in vitro* que utilizam extratos não diluídos tendem a sobrestimar a citotoxicidade real dos materiais dentários (Ohlsson et al., 2024).

A utilização de diferentes diluições nos ensaios seguintes permitem, assim, aproximar-se mais das condições fisiológicas; os resultados mostram que um aumento da diluição dos extratos é acompanhado por uma melhoria significativa da viabilidade celular, nestas condições experimentais mais próximas do ambiente oral, a toxicidade das resinas parece reduzida e são considerados aceitável. Algumas resinas atingem, mesmo nas diluições mais elevadas, valores próximos de 100% viabilidade, sugerindo uma biocompatibilidade satisfatória em condições clínicas realistas; de facto, a biocompatibilidade é geralmente melhor *in vivo* do que *in vitro* (Gupta et al., 2012). Este efeito dose dependente é semelhante ao observado em outros estudos (Issa et al., 2003; Lovász et al., 2021).

O principal objetivo deste estudo foi avaliar a citotoxicidade *in vitro* das resinas compostas sem bisfenol A (Vitre Unique, Admira Fusion e Omnicroma) e uma resina compósita com bisfenol A (Grandio SO), e verificar a hipótese frequentemente descrita na literatura científica, de que as resinas contendo Bis-GMA apresentariam uma citotoxicidade mais elevada, devido à potencial de libertação de monómeros residuais tóxicos (Geurtsen, 2000; Schweikl et al., 2006). O Bis-GMA é, de facto, regularmente associado a efeitos biológicos indesejáveis, nomeadamente devido ao seu grau de conversão por vezes incompleto e à possível libertação de compostos derivados do bisfenol A (Van

Landuyt et al., 2007; Odabasi et al., 2024). O interesse crescente pelas resinas ditas «sem BPA» explica-se pelas preocupações relacionadas com os efeitos potenciais do BPA na saúde humana; o bisfenol A é considerado um desregulador endócrino suscetível de interferir com certas funções hormonais mesmo em baixas concentrações; e embora as quantidades libertadas pelos materiais dentários permaneçam geralmente baixas, estas preocupações têm favorecido o desenvolvimento de materiais alternativos apresentados como mais biocompatíveis (Vandenberg et al., 2012). No presente estudo, a resina Admira Fusion que não contém Bis-GMA, destaca-se efetivamente por resultados globalmente favoráveis. No entanto, os resultados obtidos não permitem confirmar totalmente que as resinas sem Bis-GMA sejam menos citotóxicas do que as que o contêm. Com efeito, a resina Grandio SO, que contém Bis-GMA, parece apresentar uma citotoxicidade inferior à da Vittra Unique, apesar de esta ser comercializada como uma resina «sem Bis-GMA».

Estas observações sugerem que a citotoxicidade das resinas compostas não depende exclusivamente da presença ou ausência de Bis-GMA; outros fatores parecem desempenhar um papel determinante, nomeadamente a natureza dos outros monómeros presentes na matriz orgânica, tais como o UDMA, o TEGDMA ou outros dimetacrilatos, cujos efeitos biológicos podem variar consideravelmente (De Angelis et al., 2021). O TEGDMA, por exemplo, possui um baixo peso molecular que favorece a sua difusão através dos tecidos e foi associado, em vários estudos, a fenómenos de stresse oxidativo e de alteração do metabolismo celular (Geurtsen & Leyhausen, 2001).

Os resultados obtidos no presente estudo encontram-se globalmente em concordância com os dados disponíveis na literatura relativamente aos materiais avaliados. No que respeita à Admira Fusion, os nossos resultados mostram uma biocompatibilidade globalmente favorável, o que está em linha com os estudos de Schubert et al. (2019) e Hoseinifar et al. (2022), que reportaram uma menor citotoxicidade dos compósitos sem BPA mas à base de ORMOCER (*Organically Modified Ceramic*). Estes resultados são frequentemente atribuídos à reduzida libertação de monómeros residuais, associada à sua matriz híbrida orgânico-inorgânica, característica dos materiais do tipo ORMOCER.

Relativamente à Grandio SO, material que contém Bis-GMA, os resultados obtidos no presente estudo indicam uma citotoxicidade globalmente intermédia o que está em concordância com a literatura, que demonstra que a presença de Bis-GMA, por si só, não determina necessariamente uma toxicidade mais elevada (Geurtsen, 2000; Schweikl, Spagnuolo & Schmalz, 2006). Estes dados reforçam a importância de considerar a formulação global do compósito, bem como a quantidade de monómeros residuais libertados, e não apenas um monómero isolado na interpretação da resposta biológica.

No que diz respeito à Omnicroma e à Vittra Unique, os resultados obtidos são consistentes com estudos recentes que demonstram que as resinas universais de tonalidade única podem apresentar comportamentos biológicos variáveis apesar de partilharem indicações clínicas semelhantes. Beltrami et al. (2021) e Wiertelak-Makala et al. (2024) salientam que diferenças na composição da matriz resinosa e no sistema fotoiniciador podem justificar variações na viabilidade celular observada entre materiais desta mesma categoria. Adicionalmente, Erdal e Karadag (2025) reportaram diferenças de citotoxicidade entre resinas universais de uma só cor, reforçando a influência significativa da formulação específica de cada material no seu comportamento biológico.

É importante salientar, contudo, que a comparação entre estudos deve ser interpretada com prudência, uma vez que existem diferenças metodológicas relevantes, por exemplo o tipo de células utilizadas, no tempo de exposição, na preparação dos extratos e nos ensaios de viabilidade celular. A linha celular utilizada, é reconhecida como tendo elevada sensibilidade a compostos tóxicos (Boncler et al., 2018), superior a linhas primárias como por exemplo fibroblastos gengivais humanos (Boraldi et al., 2009)

Tal como no presente estudo, a maioria das investigações *in vitro* não reproduz integralmente as condições do ambiente oral, o que limita a extrapolação direta dos resultados para a prática clínica. Embora esses ensaios sejam úteis para comparar materiais em condições padronizadas, eles não conseguem simular totalmente a complexidade do meio oral. Na prática clínica, as restaurações em resina composta estão sujeitas à ação da saliva, das enzimas, das variações de pH, das tensões mecânicas e térmicas, bem como à

constante renovação dos fluidos orais (Vilde et al., 2022). Assim, apesar da concordância global com a literatura, torna-se necessária a realização de novos estudos *in vitro* e *in vivo* para uma melhor compreensão do comportamento biológico destes materiais em condições fisiológicas reais. A integração desses fatores em pesquisas futuras permitiria uma aproximação mais fiel da realidade clínica e poderia até contribuir para uma eventual redução da citotoxicidade observada.

Assim, os resultados obtidos neste estudo mostram que a ausência de Bis-GMA ou de bisfenol A numa resina composta, não garante necessariamente uma menor citotoxicidade nem uma melhor biocompatibilidade. A avaliação biológica das resinas compostas deve, portanto, ter em consideração toda a sua composição química, bem como as suas propriedades físico-químicas globais. O desenvolvimento de resinas compostas sem bisfenol A constitui, no entanto, uma via promissora para melhorar a segurança biológica dos materiais de restauração. Uma melhor compreensão dos efeitos biológicos dos monómeros alternativos, bem como a otimização dos protocolos de fotopolimerização continuam, contudo, a ser necessárias para melhorar de forma sustentável a biocompatibilidade das resinas compostas.

Em termos de limitações do presente estudo, importa referir que a seleção das diluições a realizar baseou-se nos resultados obtidos com os extratos não diluídos e foi por isso diferente para as diferentes resinas. No entanto, em estudos futuros, seria pertinente testar um leque mais amplo de diluições, de forma a identificar condições que permitam alcançar uma viabilidade celular de 100%. Adicionalmente, observou-se, em alguns casos, uma variabilidade elevada nos resultados, o que reforça a necessidade de aumentar o número de repetições experimentais, de modo a melhorar a robustez e a reprodutibilidade dos dados obtidos.

VI CONCLUSÕES

Os resultados de viabilidade celular entre os diferentes materiais e as diferenças de resposta consoante os testes utilizados (MTT e vermelho neutro), sugerem comportamentos biológicos distintos consoante as resinas compostas estudadas. A hipótese nula (H_0) do presente estudo postula a ausência de diferença significativa na citotoxicidade entre as diferentes resinas compostas testadas. Assim, mesmo que algumas comparações possam ser limitadas pela variabilidade experimental, o conjunto de dados tende a indicar que a hipótese nula pode ser rejeitada em favor da hipótese alternativa, na medida em que foram observadas diferenças de citotoxicidade entre os materiais testados, nomeadamente em função da sua composição e da sua formulação química.

Os resultados sugerem que a citotoxicidade das resinas compostas não é determinada exclusivamente pela presença ou ausência de Bis-GMA, mas antes pela composição global de cada material. Assim, a avaliação da biocompatibilidade deve considerar a formulação completa da resina composta.

VII BIBLIOGRAFIA

- Beltrami, R., Colombo, M., Rizzo, K., Di Cristofaro, A., Poggio, C., & Pietrocola, G. (2021). Cytotoxicity of different composite resins on human gingival fibroblast cell lines. *Biomimetics*, 6(2), 26. <https://doi.org/10.3390/biomimetics6020026>
- Berthault, G. N., Durand, A. L., Lasfargues, J. J., & Decup, F. (2008). Les nouveaux composites: Évaluation et intérêts cliniques pour les restaurations en technique directe. *Revue d'Odonto-Stomatologie*, 37(3), 181–196.
- Bieler, J., Cannavo, R., Gustafson, K., Gobet, C., Gatfield, D., & Naef, F. (2014). Robust synchronization of coupled circadian and cell cycle oscillators in single mammalian cells. *Molecular Systems Biology*, 10(7), 739. <https://doi.org/10.15252/msb.20145218>
- Boncler, M., Lukasiak, M., Dastych, J., Golanski, J., & Watala, C. (2018). Differentiated mitochondrial function in mouse 3T3 fibroblasts and human epithelial or endothelial cells in response to chemical exposure. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 124(2), 199-210. <https://doi.org/10.1111/bcpt.13117>
- Boraldi, F., Coppi, C., Bortolini, S., Consolo, U., & Tiozzo, R. (2009). Cytotoxic Evaluation of Elastomeric Dental Impression Materials on a Permanent Mouse Cell Line and on a Primary Human Gingival Fibroblast Culture. *Materials*, 2(3), 934-944. <https://doi.org/10.3390/ma2030934>
- Born, F. (2024). Bisphénol A, perturbateurs endocriniens et composites dentaires. Dr. Born Dentiste À Lausanne. <https://dents-blanches.ch/article-4-2-2-2/>
- Chaple Gil, A., Caviedes, R., Bersezio, C., Martín, J., Fernández, E., & Angel, P. (2025). Color matching and stability of single-shade chameleon dental composites: A systematic review. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 37(7), 1838–1847. <https://doi.org/10.1111/jerd.13461>
- Chaput, F., & Faure, A.-C. (2018). Composites dentaires. Techniques de l'Ingénieur. <https://hal.science/hal-02362465/file/Composites-dentaire-F-Chaput-A-C-Faure.pdf>
- Chang, J., Lim, B., Chung, S. H., & Moon, W. (2025). Effect of opalescence in resin-based dental composites on the active color matching ability. *BMC Oral Health*, 25(1), 402. <https://doi.org/10.1186/s12903-024-05233-2>
- Çadırcı, M., & Özakar, N. (2025). Clinical performance of single shade universal resin composites: A randomized controlled one year follow-up study.

- BMC Oral Health, 26(1), 154. <https://doi.org/10.1186/s12903-025-07472-3>
- De Angelis, F., Mandatori, D., Schiavone, V., et al. (2021). Cytotoxic and genotoxic effects of composite resins on cultured human gingival fibroblasts. *Materials*, 14(18), 5225. <https://doi.org/10.3390/ma14185225>
- De Araújo Guimarães, C. P., De Oliveira, E. M. B., Da Silva Torres, A., Isolan, C. P., & De Araújo, C. T. P. (2024). Resinas compostas monocromáticas e seu efeito camaleão. *Revista do CROMG*, 22(Supl.4). <https://doi.org/10.61217/rcromg.v22.538>
- Deng, H., Liu, F., & He, J. (2024). The effect of inorganic filler content on the properties of BPA-free bulk-fill dental resin composites. *Materials*, 17(20), 5040. <https://doi.org/10.3390/ma17205040>
- Dursun, E., Fron-Chabouis, H., Attal, J. P., & Raskin, A. (2016). Bisphenol A release: Survey of the composition of dental composite resins. *The Open Dentistry Journal*, 10, 446–453. <https://doi.org/10.2174/1874210601610010446>
- Eder, K. M., et al. (2022). Standardization of an in vitro assay matrix to assess cytotoxicity of organic nanocarriers: A pilot interlaboratory comparison. *Drug Delivery and Translational Research*, 12(9), 2187–2206. <https://doi.org/10.1007/s13346-022-01203-9>
- Erdal, B., & Karadag, G. (2025). Evaluation of the total antioxidant capacity and cytotoxicity of single shade universal resin composites. *BMC Oral Health*, 25(1), 1991. <https://doi.org/10.1186/s12903-025-07427-8>
- Fathpour, K., Salehi, A., Samimi, P., & Fathi, A. (2024). Evaluating the color matching ability of a smart chromatic technology–based composite resin. *International Journal of Dentistry*, 2024, 5514821. <https://doi.org/10.1155/2024/5514821>
- Fleisch, A. F., Sheffield, P. E., Chinn, C., Edelstein, B. L., & Landrigan, P. J. (2010). Bisphenol A and related compounds in dental materials. *Pediatrics*, 126(4), 760–768. <https://doi.org/10.1542/peds.2009-2693>
- Flottes, Y., & Dursun, E. (2026). Proteomic analysis of fibroblasts exposed to Bis-GMA. *Journal of Oral Biosciences*, 68(1), 100737. <https://doi.org/10.1016/j.job.2026.100737>
- Freshney, R. I. (2016). *Culture of animal cells: A manual of basic technique and specialized applications*. Wiley.
- Geurtsen, W. (2000). Biocompatibility of resin-modified filling materials. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 11(3), 333–355. <https://doi.org/10.1177/10454411000110030401>

- Geurtsen, W., & Leyhausen, G. (2001). Chemical-biological interactions of TEGDMA. *Journal of Dental Research*, 80(12), 2046–2050.
<https://doi.org/10.1177/00220345010800120401>
- Gul, P., et al. (2021). Effects of Bisphenol A released from composite fillings on reproductive hormone levels in men. *International Dental Journal*, 71(4), 343–351. <https://doi.org/10.1016/j.identj.2020.12.008>
- Gupta, S. K., Saxena, P., Pant, V. A., & Pant, A. B. (2012). Release and toxicity of dental resin composite. *Toxicology International*, 19(3), 225–234.
<https://doi.org/10.4103/0971-6580.103652>
- Hoseinifar R, Eskandarizadeh A, Lashkarizadeh L, Derakhshani A, Arjmand F. Cytotoxicity effects of nanohybrid, bulk-fill, and ormocer composites on dental pulp stem cells and human gingival fibroblast cells. *Dent Res J (Isfahan)*. 2022 Nov 17;19:101. PMID: 36605150; PMCID: PMC9808008.
- Ilie, N., & Hickel, R. (2011). Resin composite restorative materials. *Australian Dental Journal*, 56(S1), 59–66. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2010.01296.x>
- Issa, Y., Watts, D., Brunton, P., Waters, C., & Duxbury, A. (2003). Resin composite monomers alter MTT and LDH activity. *Dental Materials*, 20(1), 12–20. [https://doi.org/10.1016/s0109-5641\(03\)00053-8](https://doi.org/10.1016/s0109-5641(03)00053-8)
- Lefevre, M., et al. (2005). TEGDMA induces mitochondrial damage and oxidative stress. *Biomaterials*, 26(25), 5130–5137.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.01.014>
- Lempel, E., et al. (2014). Quantification of conversion degree and monomer elution. *Chromatographia*, 77(17–18), 1137–1144.
<https://doi.org/10.1007/s10337-014-2647-3>
- Lopes-Rocha, L., et al. (2021). Toxicity of BPA from resin composites. *Journal of Biomedical Materials Research Part B*, 109(11), 1942–1952.
<https://doi.org/10.1002/jbm.b.34843>
- Lovász, B. V., et al. (2021). TEGDMA induces apoptotic pathways. *Polymers*, 13(5), 699. <https://doi.org/10.3390/polym13050699>
- Marzouk, T., et al. (2019). Exposure to BPA from dental treatment. *JDR Clinical & Translational Research*, 4(2), 106–115.
<https://doi.org/10.1177/2380084418816079>
- Maserejian, N. N., et al. (2012). Dental composite restorations and psychosocial function in children. *Pediatrics*, 130(2), e328–e338.
<https://doi.org/10.1542/peds.2011-3374>
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival. *Journal of Immunological Methods*, 65(1–2), 55–63.
[https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)

- Odabasi, D., et al. (2024). Residual monomer release from flowable composites. *BMC Oral Health*, 24(1), 244. <https://doi.org/10.1186/s12903-024-04005-2>
- Ohlsson, E., et al. (2024). Cytotoxicity of self-adhesive restorative materials. *Dental Materials*, 40(4), 739–746. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2024.02.015>
- Oliveira, H., et al. (2024). Mechanical and optical characterization of single-shade composites. *Operative Dentistry*, 49(2), 210–221.
- Papakonstantinou, A. E., et al. (2013). UDMA as substitute for Bis-GMA. *Dental Materials*, 29(8), 898–905. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.05.007>
- Pratap, B., et al. (2019). Resin-based restorative materials. *Japanese Dental Science Review*, 55(1), 126–138. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2019.09.004>
- Raskin, A., & Lehmann, N. (2009). Résines composites en technique directe. *Les Cahiers de prothèse*, 148, 31–44. <https://hal.science/hal-03467912>
- Reda, S. A., et al. (2023). Bis-GMA-free composites and marginal integrity. *BMC Oral Health*, 23(1), 1022. <https://doi.org/10.1186/s12903-023-03759-5>
- Repetto, G., et al. (2008). Neutral red uptake assay. *Nature Protocols*, 3(7), 1125–1131. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.75>
- Riva, Y. R., & Rahman, S. F. (2019). Dental composite resin: A review. *AIP Conference Proceedings*, 2193(1), 020011.
- Romo-Huerta, M. J., et al. (2021). Genotoxicity of residual monomers. *Oral Health and Preventive Dentistry*, 19, 471–480.
- Santana, I. C., et al. (2025). Monochromatic composite resins: Roughness and color stability. *BMC Oral Health*, 25. <https://doi.org/10.1186/s12903-025-05681-4>
- Schubert, A., et al. (2019). Cytotoxic effects of ormocer vs dimethacrylate composites. *Clinical Oral Investigations*, 23(1), 133–139. <https://doi.org/10.1007/s00784-018-2419-9>
- Schweikl, H., Spagnuolo, G., & Schmalz, G. (2006). Toxicology of dental resin monomers. *Journal of Dental Research*, 85(10), 870–877. <https://doi.org/10.1177/154405910608501001>
- Silva, T. S., et al. (2023). Resinas compostas monocromáticas. *Research Society and Development*, 12(12), e79121243818.

- Šimková, M., et al. (2020). Dental composites and BPA release. *Physiological Research*, 69(Suppl 2), S295–S304.
<https://doi.org/10.33549/physiolres.934518>
- Tichy, A., et al. (2022). BPA release under polymerization conditions. *Polymers*, 14(1), 46. <https://doi.org/10.3390/polym14010046>
- Tkáčiková, S., & Sabo, J. (2023). Monomer release in saliva. *Medicina*, 59(7), 1204. <https://doi.org/10.3390/medicina59071204>
- Van Landuyt, K. L., et al. (2007). Composition of dental adhesives. *Biomaterials*, 28(26), 3757–3785.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.04.044>
- Vandenberg, L. N., et al. (2012). Endocrine-disrupting chemicals. *Endocrine Reviews*, 33(3), 378–455. <https://doi.org/10.1210/er.2011-1050>
- Vilde, T., et al. (2022). Aging of dental bonding agents. *Dentistry Journal*, 10(1), 13. <https://doi.org/10.3390/dj10010013>
- Wataha, J. C. (2001). Principles of biocompatibility for dental practitioners. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 86(2), 203–209.
<https://doi.org/10.1067/mpr.2001.117056>
- Wiertelak-Makała, K., et al. (2023). Cytotoxicity of resin-based composites: Systematic review. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(1), 152. <https://doi.org/10.3390/ijms25010152>
- Woźniak-Budych, M. J., et al. (2023). Biocompatibility of dental biomaterials. *Dental and Medical Problems*, 60(4), 709–739.
<https://doi.org/10.17219/dmp/172732>
- Yilmaz, F., et al. (2025). Color matching of single-shade composites. *Scientific Reports*, 15, 38163. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-22>