

AVALIAÇÃO DA CITOTOXIDADE DE DIFERENTES RADIOPATIZANTES UTILIZADOS EM MATERIAIS ODONTOLÓGICO.

NEDEL, Fernanda¹; FERLA, Marcelo dos Santos¹; SÓRIA, Thomás Santana¹; BOLFONI, Marcos Rodolfo¹; FURTADO, Ricardo D'Ávila¹; LIMA, Giana da Silva²; DEMARCO, Flávio Fernando³;

¹ Acadêmico (a) da Faculdade de Odontologia – UFPel

² PhD em Dentística Restauradora - UFPel

³ Departamento de Odontologia Restauradora - UFPel

Faculdade de Odontologia – Rua Gonçalves Chaves n°457 – CEP 96015-560.

fernanda.nedel@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Sabe-se que a radiologia é auxiliar no exame de diagnóstico na odontologia. Nas radiografias as imagens aparecem radiopacas, o que é determinado por regiões esbranquiçadas, ou radiolúcidas, onde a coloração será acinzentada ou escurecida, sendo esta propriedade denominada radiopacidade. É de extrema importância que materiais odontológicos, que são colocados em contato com a estrutura dentária, como as resinas compostas (Camacho et al., 2008), o amálgama, os cimentos de hidróxido de cálcio e ionômeros de vidro (Fook, et al., 2008) apresentem radiopacidade adequada, característica conferida pelos radiopatizantes acrescidos aos diferentes materiais odontológicos.

Vários estudos *in vitro* têm demonstrado a difusão de monômeros residuais de materiais resinosos para o interior dos túbulos dentinários, fato que pode causar danos a polpa dentária (Hume 2006; Volk 2006; Moharamzadeh 2007). Embora um grande número de estudos tenham avaliado a liberação de monômeros de materiais dentários, pouco se sabe sobre os efeitos biológicos das substâncias radiopatizantes. E a informação existente está relacionada com a liberação de partículas inorgânicas (radiopatizantes) em direção a cavidade oral e não a câmara pulpar.

É descrito que partículas inorgânicas podem liberar íons para o ambiente (Ansteinsson 2008) e induzir citotoxicidade e stress oxidativo em células humanas (Fleury 2006). Além disso, essas partículas podem causar a liberação de mediadores da inflamação *in vitro* (Ansteinsson 2008). Esses aspectos podem representar um grande prejuízo para as células pulpareas.

Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a citotoxicidade *in vitro* de diferentes radiopatizantes utilizados em materiais odontológicos (Dióxido de Titânio, Zircônia, Sulfato de Bário, Óxido de Bismuto, Quartzo, Fluoreto de Ytérbio) empregando diferentes concentrações (5, 10, 20 e 40%).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Cada tipo de radiopatzante dióxido de titânio (TiO_2), zircônia (ZrO_2), sulfato de bário (BaSO_4), óxido de bismuto (Bi_2O_3), quartzo (SiO_2), fluoreto de ytérbio (YbF_3) foi dissolvido em dimetilsulfóxido (DMSO, Vetec[®]) e diluído em DMEM / SFB para criar as quatro concentrações experimentais (40, 20, 10 e 5%). Todo o procedimento foi realizado na capela de fluxo laminar, e as diluições foram armazenadas na geladeira até o momento da sua utilização. A concentração final de DMSO não excedeu 0.5% (v/v), foi observado em experimentos anteriores que essa concentração de DMSO não é tóxica para as células NIH/3T3.

Foram utilizados fibroblastos de camundongos (NIH/3T3), os quais foram obtidos do Banco de Células do Rio de Janeiro/RJ. A suspensão das células NIH/3T3 foi preparada em uma densidade de 2×10^4 e distribuídas em uma placa (200 μL poço⁻¹) de cultura celular (ELISA) de 96 poços. A placa foi então incubada a 37°C, em ar a 5% CO_2 por 24 horas. Após este período o meio de cultura foi removido dos poços e volumes iguais (200 μL poço⁻¹) do material experimental foram adicionados em cada poço e incubados por 24 horas. Nos poços controles 200 μL poço⁻¹ de DMEM/SFB foram adicionados, e nos controles com DMSO foram adicionados 200 μL poço⁻¹ de DMEM/SFB com uma concentração de 0,5% de DMSO. Após a remoção dos materiais experimentais, 100 μL poço⁻¹ de DMEM e 20 μL de MTT (sal tetrazolium [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium brometo]) foi adicionado em cada poço e mantido em incubadora por 4 horas a 37°C. Então o MTT foi aspirado e 200 μL poço⁻¹ de DMSO foi adicionado a cada poço. Subseqüentemente, a absorbância a 570 nm foi medida usando um espectrofotômetro (Thermo Plate TP-Reader). A significância estatística foi determinada por Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance (ANOVA), com o nível de confiança de 95% ($p < 0.05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 demonstra as medianas da densidade óptica (DO) dos diferentes radiopatzantes e concentrações testadas. Quando as diferentes substâncias foram testadas em relação a sua citotoxicidade não houve diferença estatística significativas para as diferentes concentrações em cada um dos radiopatzantes testados, assim ao aumentar a concentração de 5% a 40 % não houve aumento da resposta citotóxica ($p > 0.05$). Também, quando comparados os diferentes radiopatzantes entre si nenhuma diferença estatística significativa foi observada entre os grupos experimentais e os grupos controles ($p > 0.05$), mostrando os efeitos não citotóxicos dos radiopatzantes testados. Além disso, os achados demonstram que o DMSO na concentração testada não produz efeito citotóxico sobre as células NIH/3T3.

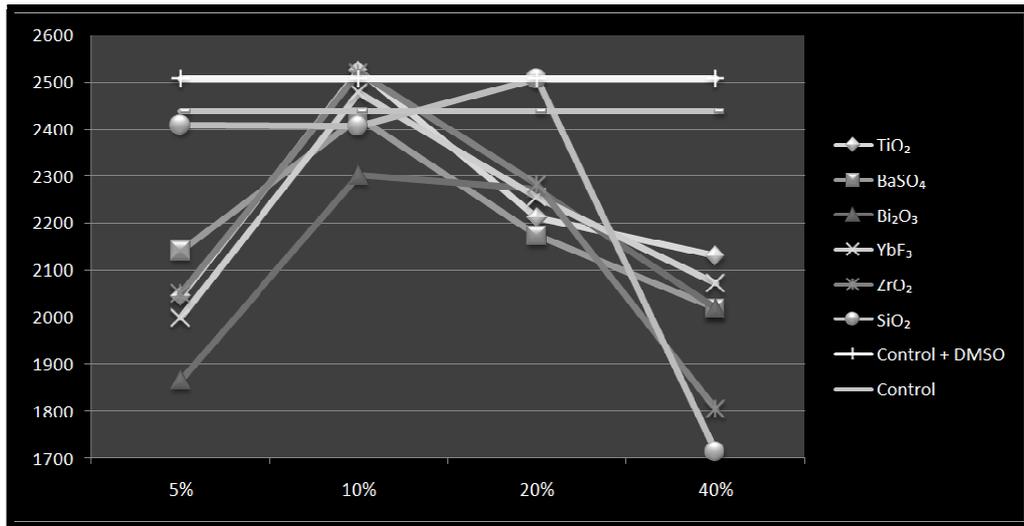


Figura 1 – Densidade óptica (OD) dos diferentes radiopacitantes e concentrações testes.

Tem sido avaliada a citotoxicidade do óxido de bismuto devido a sua incorporação no cimento de Portland. Em um estudo recente, o óxido de bismuto quando associado ao cimento de Portland se mostrou citotóxico nas primeiras 24 horas, onde essa atividade citotóxica diminuiu em função do tempo (Min et al., 2007). No presente estudo o óxido de bismuto não foi citotóxico, contudo este estudo foi conduzido após 24 horas o que pode ter reduzido a citotoxicidade.

Foi relacionada com as partículas de quartzo a capacidade de produzir espécies reativas de oxigênio (ROS), o qual pode produzir danos ao DNA e iniciar processos carcinogênicos, além disso vários estudos *in vitro* tem demonstrado efeitos citotóxico, genotóxico e apoptótico relacionados com o quartzo (Fanizza 2007, Fanizza 2009, Li 2008). Em contraste no presente estudo o quartzo não apresentou atividade citotóxica em relação às células NIH/3T3, contudo Schins et al. (2002) observou que o dano ao DNA provocado pelo quartzo foi significativamente menor na presença de DMSO, fato que pode justificar o resultado negativo para a citotoxicidade obtida neste estudo. O fluoreto de ytérbio não apresentou atividade citotóxica no presente estudo, contudo pouco se sabe sobre o efeito biológico deste componente em especial na odontologia, o qual já tem sido utilizado clinicamente em produtos dentários, como Heliomolar Ro (Preston 2003).

O dióxido de titânio tem sido amplamente utilizado em odontologia e é conhecido pela sua biocompatibilidade em implantes dentários, contudo esta característica é devido a uma camada de óxido natural, todavia soluções de Ti podem influenciar a organização circundante (Kumazawa 2002). No presente estudo, não foi detectado um efeito citotóxico nas diferentes concentrações testadas de Ti, contudo, em um estudo recente, efeitos citotóxicos foram detectados em células humanas de linfoma (U937), consistindo em modificações apoptóticas e necróticas (Vamanu 2008). Este contraste de resultados pode ser em parte devido ao diâmetro das partículas, uma vez que foi demonstrado que partículas de Ti com diâmetro abaixo de 10 μm pode induzir efeitos citotóxicos *in vivo* e *in vitro*, e quando o diâmetro das partículas são menores que as células inflamatórias, as partículas podem ser envolvida e induzir citotoxicidade (Kumazawa 2002).

4. CONCLUSÕES

Em conclusão, os tipos e concentrações de radiopatzantes utilizados no presente estudo não são citotóxicos as células NIH/3T3, contudo é importante ter cutela quanto ao seu uso uma vez que não existe unanimidade nos estudo a respeito da sua citotoxicidade e genotóxicidade. Ademais, grande parte dos estudos são realizados *in vitro*, onde a tentativa de mimetizar a situação que se deseja a não é real e os resultados pode ser alterados quando *in vivo*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANSTEINSSON, V. E., SAMUELSEN, J. T., DAHL, J. E. Filler particles used in dental biomaterials induce production and release of inflammatory mediators in vitro. **Journal of Biomedical Materials Research. Part B**, 2009, 89, p. 86-92.
- CAMACHO, G. B.; NEDEL, F.; MARTINS, G. B.; TORINO, G. G. Avaliação da rugosidade superficial de resinas compostas expostas a diferentes agentes. **Revista de Odontologia da UNESP**, 2008, 37, p. 211-216.
- FANIZZA, C., URSINI, C. L., PABA, E., CIERVO, A., DI FRANCESCO, A., MAIELLO, R., DE SIMONE, P., CAVALLO, D. Cytotoxicity and DNA-damage in human lung epithelial cells exposed to respirable alpha-quartz. **Toxicol In Vitro**, 2007, 21, p. 586-94.
- FANIZZA, C., FRESEGNA, A. M., MAIELLO, R., PABA, E., CAVALLO D. Evaluation of cytotoxic concentration-time response in A549 cells exposed to respirable alpha-quartz. **Journal of applied toxicology**, 2009, 29, p. 537- 44.
- FLEURY, C., PETIT, A., MWALE, F., ANTONIOU, J., ZUKOR, D. J., TABRIZIAN, M., HUK, O. L. Effect of cobalt and chromium ions on human MG-63 osteoblasts in vitro: morphology, cytotoxicity, and oxidative stress. **Biomaterials**, 2006, 27, p. 3351-60.
- FOOK, A. C. B. M., AZEVEDO, V. V. C., BARBOSA, W. P. F., FIDÉLES, T. B., FOOK, M. V. L. Materiais odontológicos: Cimentos de ionômero de vidro. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, 2008, 3, p. 40-45.
- HUME, W. R., GERZINA, T. M. Bioavailability of components of resin-based materials which are applied to teeth. **Critical Reviews in Oral Biology and Medicine**, 1996, 7, p. 172-9.
- KUMAZAWA, R., WATARI, F., TAKASHI, N., TANIMURA, Y., UO, M., TOTSUKA, Y. Effects of Ti ions and particles on neutrophil function and morphology. **Biomaterials**, 2002, 23, p. 3757-64.
- LI, H., VAN BERLO, D., SHI, T., SPEIT, G., KNAAPEN, A. M., BORM, P. J., ALBRECHT, C., SCHINS, R. P. Curcumin protects against cytotoxic and inflammatory effects of quartz particles but causes oxidative DNA damage in a rat lung epithelial cell line. **Toxicology and Applied Pharmacology**, 2008, 227, p. 115-24.
- MIN, K. S., CHANG, H. S., BAE, J. M., PARK, S. H., HONG, C. U., KIM, E. C. The induction of heme oxygenase-1 modulates bismuth oxide-induced cytotoxicity in human dental pulp cells. **Journal of Endodontia**, 2007, 33, p. 1342-6.
- MOHARAMZADEH, K., VAN NOORT, R., BROOK, I. M., SCUTT, A. M. Cytotoxicity of resin monomers on human gingival fibroblasts and HaCaT keratinocytes. **Dental Materials**, 2007, 23, p. 40-4.
- PRESTON, A. J., AGALAMANYI, E. A., HIGHAM, S. M., MAIR, L. H. The recharge of esthetic dental restorative materials with fluoride in vitro-two years' results. **Dental Materials**, 2003, 19, p. 32-7.

SCHINS, R. P., KNAAPEN, A. M., CAKMAK, G. D., SHI, T., WEISHAUPT, C., BORM, P. J. Oxidant-induced DNA damage by quartz in alveolar epithelial cells. **Mutation Research**, 2002, 517, p. 77-86.

VAMANU, C. I., CIMPAN, M. R., HØL, P. J., SØRNES, S., LIE, S. A., GJERDET, N. R. Induction of cell death by TiO₂ nanoparticles: studies on a human monoblastoid cell line. **Toxicology in Vitro**, 2008, 22, p. 1689-96.

VOLK, J., ENGELMANN, J., LEYHAUSEN, G., GEURTSSEN, W. Effects of three resin monomers on the cellular glutathione concentration of cultured human gingival fibroblasts. **Dental Materials**, 2006, 22, p. 499-505.