

AValiação da Citotoxicidade de um Cimento Experimental à Base de MTA

DUTRA, André Lindemann¹; PINTADO, Laura¹; TORRE, Eliana do Nascimento¹; ETGES, Adriana¹; LEITE, Fábio Renato Manzolli Leite²

¹ Universidade Federal de Pelotas/ Faculdade Federal de Odontologia; ² Faculdade Federal de Odontologia, Departamento de Semiologia e Clínica. leite.fabio@gmail.com

1 INTRODUÇÃO:

Por muitos anos, o Hidróxido de cálcio ocupou o posto de material de primeira escolha para a proteção e indução da polpa dentária em casos de exposição pulpar e cavidades profundas. Atualmente, no entanto, em casos de capeamento pulpar direto o material de primeira escolha tem sido o cimento mineral trióxido agregado (MTA). O MTA é um material efetivo para a realização de capeamento pulpar, pois estimula a formação de dentina reparativa formando tecido mineralizado osteóide no local do capeamento (Tziafas, 2002).

Algumas das características do MTA têm sido citadas como limitantes por dificultarem sua aplicação. Estas limitações estão relacionadas à dificuldade de manipulação do material (Porter, 2010), tempo de trabalho reduzido (Chng, 2005) e o tempo de presa considerado prolongado (Chiang, 2010), variando em 50 minutos (Kogan, 2006) até três horas (Porter, 2010). Neste sentido diversos autores sugeriram alterações na formulação do MTA para diminuir o tempo de trabalho (Kogan, 2006).

Com propriedades semelhantes ao MTA e buscando melhorar as propriedades clínicas de trabalho, como manipulação e tempo de presa, um cimento experimental à base de MTA foi desenvolvido na Faculdade de Odontologia da UFPel com a proposta de ser fotoativável e manter a sua reação de presa tradicional, sendo assim um cimento dual. O MTA fotoativado é composto por duas pastas, uma catalizadora e a outra ativadora, que ao serem misturadas iniciam o processo de presa química que pode ser concluída com a utilização do fotopolimerizador.

O presente estudo avaliou em uma linhagem celular imortalizada de fibroblastos de camundongo 3T3/NIH, as propriedades biológicas através do ensaio de citotoxicidade deste cimento experimental fotoativado à base de MTA comparando-o com o MTA comercialmente disponível.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1.1 Cultivo da linhagem celular 3T3 de camundongo

Para o descongelamento um tubo contendo células 3T3/NIH, provenientes do Laboratório de Cultivo Celular da FOUPPel, foi levado a temperatura de 37°C por parcial imersão em banho-maria.

2.1.2 Preparo dos corpos-de-prova a partir do MTA convencional e do fotoativado

Os corpos-de-prova foram confeccionados em formato de pastilhas apresentando 5,5mm de diâmetro e 1mm de espessura estabelecidos com auxílio de uma matriz metálica circular e polimerizados. Foram esterilizados em luz ultravioleta. Em seguida, foram imersos em 1mL de meio DMEM por 24h para condicioná-lo (meio teste).

2.1.3 Teste de citotoxicidade (viabilidade celular por MTT)

A suspensão das células foi plaqueada em uma concentração de 2×10^4 células

por poço e distribuídas em placas de cultivo celular de 96 poços. Cada poço recebeu 200 µl de DMEM suplementado com 10% de SFB e 1% de antibiótico. As placas foram encubadas à 37°C, em ar a 5% de CO₂ por 24h com os fibroblastos 3T3/NIH e por 48h com os FPH, para promover adesão celular ao fundo dos poços (Freshney, 2000). As células do experimento ficaram em contato com o meio teste por 24h na incubadora de CO₂. Poços com DMEM sem a adição de células foram usados como controles brancos. Foram utilizados três poços da placa para cada material teste e para o controle, nos quais foram adicionados células com o meio de cultura, não sendo realizada troca pelo meio condicionado.

Após 24 horas foi feita a remoção do sobrenadante e adicionados 20µl de MTT (sal tetrazolium [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium brometo) (Sigma/Aldrich) diluídos em 180µl de DMEM em cada poço (5 mg/m MTT). As placas foram então incubadas em ambiente sem luminosidade por 4 horas à 37°C em atmosfera com 5% CO₂ (Thermo Electron Corporation). Após este período, a solução contendo MTT diluído em DMEM foi aspirada e os cristais depositados no fundo da placa solubilizados com 200µl de dimetilsulfóxido em cada poço. Subsequentemente, a absorbância foi medida usando um espectrofotômetro (Termoplate/TP-Reader) em um comprimento de onda de 540nm. O experimento foi repetido três vezes com cada tipo celular em momentos independentes para confirmação dos resultados.

Os ensaios foram realizados em triplicata e repetidos independentemente três vezes. Em todos os ensaios os valores foram expressos em porcentagem nos quais o valor do controle (sem tratamento) foi equivalente a “1”, sendo os demais grupos comparados proporcionalmente a este através dos dados normalizados. Os dados foram digitados em software adequado (SigmaStat 3.5), e o teste utilizado ANOVA.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A viabilidade celular entre o MTA convencional, o MTA experimental e o grupo controle não apresentou diferença estatisticamente significante, porém o MTA experimental fotoativado apresentou maior citotoxicidade que o grupo controle e o MTA convencional. A produção de um MTA fotoativável com presa dual (como proposto no presente estudo) pretende reduzir os problemas relacionados à dificuldade de manipulação do MTA convencional, que são amplamente discutidos na literatura. Neste estudo foi possível observar que todos os grupos apresentaram comportamento estatisticamente semelhante, no qual o MTA convencional apresentou viabilidade celular semelhante ao grupo controle.

Diferentemente do nosso estudo, Gomes-filho, 2008, 2010 e 2011, utilizou um MTA fotoativável semelhante ao testado neste estudo, avaliado através da técnica de biocompatibilidade subcutânea *in vivo*, no qual o material experimental demonstrou-se biocompatível, semelhante ao MTA convencional. Este fato pode ser explicado pelo extenso mecanismo de compensação de injúrias nas diferentes células teciduais.

Sideridou e Achilias (2005) observaram que o aumento do tempo de polimerização das resinas compostas diminui a liberação das substâncias tóxicas. Assim, talvez aumentando o tempo de polimerização do MTA experimental fotoativável se obtenha diminuição na toxicidade nos fibroblastos 3T3.

4 CONCLUSÕES

MTA convencional é um material que não interfere na viabilidade celular, não sendo citotóxico. O MTA experimental fotoativável apresentou maior citotoxicidade em linhagem de fibroblastos 3T3/NIH sendo necessários mais estudos em outros tipos

celulares e *in vivo*.

5 REFERÊNCIAS

CHANG, M. C.; CHEN, L. I.; CHAN, C. P.; LEE, J. J.; WANG, T. M.; YANG, T. T.; LIN, P. S.; LIN, H. J.; CHANG, H. H.; JENG, J. H. The role of reactive oxygen species and hemoxygenase-1 expression in the cytotoxicity, cell cycle alteration and apoptosis of dental pulp cells induced by BisGMA. **Biomaterials**, v.31, n.32, p.8164-71, 2010.

CHIANG, T. Y.; DING, S. J. Comparative physicochemical and biocompatible properties of radiopaque dicalcium silicate cement and mineral trioxide aggregate. **Journal of Endodontics**, v.36, n.10, p.1683-7, 2010.

CHNG, H. K.; ISLAM, I.; YAP, A. U.; TONG, Y. W.; KOH, E. T. Properties of a new root-end filling material. **Journal of Endodontics**, v.31, n.9, p.665-8, 2005.

FRESHNEY, R. Ian. **Culture of Animal Cells A manual of Basic Technique**. 4^{ed}. New York: Wiley-Liss. 2000. 578 p.

GOMES-FILHO, J. E.; DE FARIA, M. D.; BERNABE, P. F.; NERY, M. J.; OTOBONI-FILHO, J. A.; DEZAN-JUNIOR, E.; DE MORAES COSTA, M. M.; CANNON, M. Mineral trioxide aggregate but not light-cure mineral trioxide aggregate stimulated mineralization. **Journal of Endodontics**, v.34, n.1, p.62-5, 2008.

GOMES-FILHO, J. E.; DE MORAES COSTA, M. M.; CINTRA, L. T.; DUARTE, P. C.; TAKAMIYA, A. S.; LODI, C. S.; BERNABE, P. F. Evaluation of rat alveolar bone response to Angelus MTA or experimental light-cured mineral trioxide aggregate using fluorochromes. **Journal of Endodontics**, v.37, n.2, p.250-4, 2011.

GOMES-FILHO, J. E.; DE MORAES COSTA, M. T.; CINTRA, L. T.; LODI, C. S.; DUARTE, P. C.; OKAMOTO, R.; BERNABE, P. F.; NERY, M. J.; CANNON, M. Evaluation of alveolar socket response to Angelus MTA and experimental light-cure MTA. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v.110, n.5, p.e93-7, 2010.

KOGAN, P.; HE, J.; GLICKMAN, G. N.; WATANABE, I. The effects of various additives on setting properties of MTA. **Journal of Endodontics**, v.32, n.6, p.569-72, 2006.

PORTER, M. L.; BERTO, A.; PRIMUS, C. M.; WATANABE, I. Physical and chemical properties of new-generation endodontic materials. **Journal of Endodontics**, v.36, n.3, p.524-8, 2010.

SIDERIDOU, I. D.; ACHILIAS, D. S. Elution study of unreacted Bis-GMA, TEGDMA, UDMA, and Bis-EMA from light-cured dental resins and resin composites using HPLC. **Journal of Biomedical Materials Research B Appl Biomater**, v.74, n.1, p.617-26, 2005.

TZIAFAS, D.; PANTELIDOU, O.; ALVANOU, A.; BELIBASAKIS, G.; PAPADIMITRIOU, S. The dentinogenic effect of mineral trioxide aggregate (MTA) in short-term capping experiments. **International Endodontics Journal**, v.35, n.3, p.245-54, 2002.