

AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE CIMENTOS OBTURADORES DOS CANAIS RADICULARES.

**Sposito, Otávio da Silva¹; Knabach, César Blaas; Linhares, Giane da Silva;
Torre, Eliana; Etges, Adriana; Jacinto, Rogério de Castilho²**

¹Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas; ²Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Semiologia e Clínica.
rogeriocastilho@hotmail.com

1 INTRODUÇÃO

Na odontologia, vários tipos de materiais são utilizados para obturar os canais radiculares. Estes materiais obturadores são colocados em contato direto com os tecidos periapicais por longos períodos, o que como resultado libera substâncias ou produtos de degradação que podem alcançar os tecidos periapicais adjacentes (ligamento periodontal, osso alveolar) via túbulos dentinários, canais laterais e forame apical. Assim, as propriedades biológicas desses materiais são importantes já que materiais citotóxicos podem danificar os tecidos periapicais (Bouillaguet S *et al.* 2006).

Estudos prévios têm demonstrado que a citotoxicidade de diferentes cimentos endodônticos variam consideravelmente (Huang *et al.* 2002, Zmener 2004). A citotoxicidade dos cimentos a base de resina epóxi está bem documentada (Schweickl *et al.* 1998, Miletic *et al.* 2000, Huang *et al.* 2002). Por outro lado, pouco se sabe sobre a citotoxicidade dos cimentos a base de Hidróxido de cálcio e a base de óxido de zinco e eugenol e em especial em relação ao FillApex (Angellus) que é um novo cimento endodôntico a base de MTA.

Diante disso o objetivo deste estudo foi avaliar a citotoxicidade dos cimentos endodônticos FillApex (MTA), Endofill (óxido de zinco e eugenol), Sealer 26 (hidróxido de cálcio).

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS) TESTE DE CITOTOXICIDADE

Técnica de cultivo primário de fibroblastos pulpaes humanos

Uma linhagem celular de fibroblastos pulpaes humanos foi estabelecida para a avaliação da citotoxicidade dos cimentos endodônticos avaliados neste estudo. A linhagem celular será estabelecida no Laboratório de Cultivo Celular do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas. As polpas dentárias foram obtidas de terceiros molares hígidos de pacientes jovens e saudáveis com rizogênese incompleta e indicado para extração por motivos ortodônticos. Os fragmentos foram lavados por duas vezes em PBS, e imersos em um meio de DMEM + 20% de SFB + 10% de antibiótico. Esses fragmentos foram mantidos em garrafas de cultivo celular com DMEM e SFB em estufa de CO₂. As células foram separadas entre si e do fundo do frasco com 2 mL de solução de tripsina a 0,25% com 1 mM EDTA durante 5 minutos, a 37°C. Após a aspiração do sobrenadante, o precipitado de células foi ressuspenso em 1 mL de meio de cultura. Alíquotas dessa suspensão de células foram distribuídas em frascos de 25 cm² contendo 5 mL de meio de cultivo suplementado com SFB a 10%.

Os frascos foram mantidos em estufa à temperatura de 37°C e atmosfera úmida contendo 5% de CO₂. Cada procedimento de subcultura deu origem à nova passagem da linhagem celular.

Contagem celular

Antes da realização dos experimentos de citotoxicidade foi determinado o número de células existentes nos frascos de cultivo. O número de células semeadas em cada poço foi de 2×10^4 .

O número total de células presentes no frasco foi obtido através da equação abaixo:

$$\text{Número de células} = \frac{\text{número de células viáveis contadas} \times 10^4}{\text{número de quadrados usados para contagem}}$$

De acordo com a quantidade de células existentes será adicionado DMEM suficiente a essa suspensão para obter-se a quantidade desejada de células por volume.

Teste de viabilidade celular (MTT)

A suspensão das células foi plaqueada em uma concentração de 2×10^4 células por poço e distribuídas em placas de cultivo celular (ELISA) de 96 poços. Cada poço recebeu 200 µL de DMEM completo. As placas foram então incubadas a 37°C, em ar a 5% CO₂, por 24 horas. Cada linhagem celular ocupou uma placa de 96 poços. Após este período, o meio de cultura foi removido dos poços e diferentes concentrações dos cimentos endodônticos diluídos em DMEM foram adicionadas em contato com as células pelos períodos de 1, 12, 24 e 48 h. Para cada período de avaliação uma placa de 96 poços foi utilizada. Nos poços controles, foram adicionados 200 µL de DMEM mais células, sem os cimentos. Após a remoção dos cimentos, 20 µL de MTT diluídos em 180 µL de DMEM (sal tetrazolium [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium brometo] foram adicionados em cada poço. As placas foram incubadas em ambiente sem luminosidade por 24 horas a 37°C. Então, a solução contendo MTT diluído em DMEM foi aspirada e 200 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) foram adicionados em cada poço. As placas serão levadas a uma mesa agitadora a uma velocidade de 150 rpm por 5 minutos para a solubilização dos cristais de formazan produzidos pela redução do MTT pela desidrogenase succínica da respiração celular. Subsequentemente, a absorbância foi medida usando um espectrofotômetro em um comprimento de onda de 570 nm.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O MTA Fillapex foi criado numa tentativa de combinar as propriedades físico-químicas de um cimento de canal com as propriedades biológicas do MTA. O presente estudo avaliou a citotoxicidade deste cimento endodôntico em comparação a cimentos comumente utilizados na clínica endodôntica, Sealer 26, que é um cimento a base de Hidróxido de Cálcio e do Endo Fill, cimento a base de óxido de Zinco e Eugenol.

No grupo controle foi encontrado 100% de crescimento celular. Todos os cimentos testados quando em contato direto eliminaram 100% do crescimento celular. Nas diluições de 50%, o MTA Fillapex que impediu 96% do crescimento celular, sendo menos citotóxico que o Sealer 26, que impediu 100% do crescimento

celular. Entretanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre o Sealer 26 e o MTA Fillapex. O EndoFill apresentou a menor citotoxicidade uma vez que inibiu o crescimento de 61,5% sendo estatisticamente superior ao Sealer 26 e ao MTA FillApex.

A análise de citotoxicidade, empregando uma estratégia diluição do material foi utilizado para avaliar MTA Fillapex. De acordo com os resultados do presente estudo, MTA Fillapex mostraram uma citotoxicidade elevada quando as células foram expostas ao eludato deste cimento. Nossos achados estão de acordo com estudos anteriores que mostraram a viabilidade das células fortemente afetada pela MTA Fillapex (Scelza *et al.* 2012, Bin *et al.* 2012). Uma possível explicação para estes resultados é a presença de componentes tóxicos, tais como resina salicilato, Resina de Diluição e sílica em MTA composição Fillapex.

Apesar dos melhores resultados apresentados pelo Endofill, este cimento também se mostrou citotóxico. Outros estudos indicam que este cimento acentua a reação inflamatória na região apical. (Bratel *et al.* 1998). Assim o extravasamento de cimento endodôntico para os tecidos apicais deve ser evitado independente do tipo de cimento.

4 CONCLUSÃO

O Cimento endodôntico MTA Fillapex apresentou citotoxicidade semelhante ao Sealer 26, no entanto foi mais citotóxico que o Endo Fill.

5 REFERÊNCIAS

Bin CV, Valera MC, Camargo SE, Rabelo SB, Silva GO, Balducci I, Camargo CH. Cytotoxicity and genotoxicity of root canal sealers based on mineral trioxide aggregate. **J Endod**, v.38, n.4, p.495-500,2012.

Bouillaguet S, Wataha JC, Tay FR, Brackett MG, Lockwood PE. Initial in vitro biological response to contemporary endodontic sealers. **Journal of Endodontics**, v. 32, n.10, p.989-92, 2006.

Bratel J, Jontell M, Dahlgren U, Bergenholtz G. Effects of root canal sealers on immunocompetent cells in vitro and in vivo. **Int Endod J.**, v.31, n.3, p.178-88, 1998.

Huang FM, Tai KW, Chou MY, Chang YC. Cytotoxicity of resin-, zinc oxide eugenol, and calcium hydroxide-based root canal sealers on human periodontal ligament cells and permanent V79 cells. **International Endodontic Journal**, v.35, n.2, p.153-8, 2002.

Miletić I, Anić I, Karlović Z, Marsčan T, Pezelj-Ribaric S, Osmak M Cytotoxic effect of four root filling materials. **Endodontology Dental Traumatology**, v.16, n.6, p.287-90, 2000.

Scelza MZ, Linhares AB, da Silva LE, Granjeiro JM, Alves GG. A multiparametric assay to compare the cytotoxicity of endodontic sealers with primary human osteoblasts. **Int Endod J.** v.45, n.1 p.12-8, 2012.

Schweikl H, Schmalz G, Federlin M. Mutagenicity of the root canal sealer AH Plus in the Ames test. **Clin Oral Invest**, v.2,n.3, p.125, 1998.

Zmener O. Tissue response to a new methacrylatebased root canal sealer: preliminary observations in the subcutaneous connective tissue of rats. **Journal of Endodontics**, v.30, n.5, p.348–51, 2004.