

## CITOTOXICIDADE DE DOIS CIMENTOS CIRÚRGICOS PERIODONTAIS COM DIFERENTES FORMAS DE ATIVAÇÃO

**LUCIANA DOMINGUES CONCEIÇÃO<sup>1</sup>; RAFAEL GUERRA LUND<sup>1</sup>;  
EVANDRO PIVA<sup>1</sup>; GUSTAVO GIACOMELLI NASCIMENTO<sup>1</sup>; FÁBIO  
RENATO MANZOLLI LEITE<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas – ludconceicao@hotmail.com

<sup>2</sup>Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas –  
leite.fabio@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A aplicação de um cimento após a cirurgia periodontal é recomendada para reduzir o sangramento pós-operatório, proteger a área da ferida e evitar a formação de tecido de granulação excessivo (ADDY e DOLBY, 1976; JORKJEND e SKOGLUND, 1990). Em geral, os cimentos cirúrgicos periodontais são classificados como produtos à base de eugenol e produtos livres de eugenol. Materiais contendo eugenol podem causar inflamação e necrose do tecido. Além disso, estes cimentos podem induzir reações alérgicas, bem como atraso da cicatrização de feridas (HAUGEN e HENSTEN-PETTERSEN, 1978; BARKIN, BOYD et al., 1984). Logo, a tendência atual é o desenvolvimento de cimentos cirúrgicos livres de eugenol.

Poucos autores investigaram os efeitos dos cimentos cirúrgicos atuais em tecidos periodontais. Foi constatado que os produtos livres de eugenol provocam uma reação tóxica menos grave que os contendo eugenol após o implante subcutâneo em ratos por 7 ou 14 dias (NEZWEK, CAFFESSE et al., 1980). SMEEKENS e colaboradores (1992) confirmaram estes resultados em um estudo histológico em cães (SMEEKENS, MALTHA et al., 1992). Além disso, os cimentos de ativação química contendo eugenol, também denominados pasta-pasta, apresentam difícil manipulação clínica devido a sua consistência pegajosa.

Formulações atuais de cimentos cirúrgicos periodontais são baseadas em substâncias resinosas que contém, aproximadamente, 70% de ácidos resínicos, podendo provocar uma forte reação citotóxica dose-dependente em leucócitos polimorfonucleares humanos e fibroblastos gengivais *in vitro*. Esta é reduzida pelo aumento da concentração de zinco (HENN et al., 2011).

Outros componentes de cimentos periodontais resinosos, como UDMA, fotoiniciadores e aceleradores, tem sido investigados para avaliação da citotoxicidade (HANKS, STRAWN et al., 1991; GEURTSSEN, LEHMANN et al., 1998; SCHMALZ, 1998). Em especial, o UDMA revelou alta citotoxicidade em culturas de células humanas primárias e permanentes, enquanto aditivos como fotoiniciadores mostraram efeito moderado. Porém, há escassez de dados publicados sobre a biocompatibilidade de cimentos cirúrgicos periodontais, além disso, não há no mercado nacional cimentos cirúrgicos fotopolimerizáveis. A partir disso, o objetivo do nosso estudo foi comparar a biocompatibilidade por método de citotoxicidade colorimétrica dos cimentos Periobond® e Barricaid®.

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

## **2.1 Ensaios Biológicos**

### **2.1.1 Cultivo da linhagem celular 3T3 de camundongo**

A linhagem celular de fibroblastos 3T3/NIH, provenientes do Laboratório de Cultivo Celular da FO-UFPel, foi descongelada e adicionada a uma garrafa de cultivo celular. Para divisão igualitária de células por grupo experimental, as mesmas foram contadas em câmara de Neubauer. O número de células em cada poço de placa de 96 poços foi de  $2 \times 10^4$  para o teste de citotoxicidade.

### **2.1.2 Preparo dos corpos de prova**

Os corpos-de-prova foram confeccionados em formato de pastilhas apresentando 5,5mm de diâmetro e 1 mm de espessura estabelecidos com auxílio de uma matriz metálica circular, esterilizados por radiação gama. Em seguida, foram imersos em 1 mL de meio DMEM por 24h, 72h e 7 dias para condicioná-los (eludato).

### **2.1.4 Teste de citotoxicidade (viabilidade celular por MTT)**

A suspensão das células foi plaqueada em uma concentração de  $2 \times 10^4$  células por poço e distribuídas em placas de cultivo celular de 96 poços. Cada poço recebeu 200 $\mu$ L de DMEM suplementado com 10% de SFB e 1% de antibiótico. As placas foram encubadas à 37°C, em ar a 5% de CO<sub>2</sub> por 24h com os fibroblastos 3T3/NIH, para promover adesão celular ao fundo dos poços. As células do experimento ficaram em contato com os eludatos por 24h na incubadora de CO<sub>2</sub>. 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 adicionadas células com o meio de cultura, não sendo realizada troca pelo meio condicionado.

Após 24h, foi feita a remoção do sobrenadante e adicionados 20 $\mu$ L de MTT (sal tetrazolium [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium brometo] (Sigma/Aldrich) diluídos em 180 $\mu$ L de DMEM em cada poço (5mg/m MTT). As placas foram então incubadas em ambiente sem luminosidade por 4 horas à 37°C em atmosfera com 5% CO<sub>2</sub> (ThermoElectron Corporation). Após este período, a solução contendo MTT diluído em DMEM foi aspirada e os cristais depositados no fundo da placa solubilizados com 200 $\mu$ L de dimetilsulfóxido em cada poço. Subsequentemente, a absorbância foi medida usando um espectrofotômetro (Termoplate/TP-Reader) em um comprimento de onda de 540nm.

Os ensaios foram realizados em triplicata e repetidos independentemente três vezes. Os dados foram digitados em software adequado (SigmaStat 3.5), e o teste t-student pareado utilizado ( $P < 0,05$ ).

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Na Figura 1, o grupo controle apresentou menor toxicidade em comparação com os demais grupos ( $P < 0,001$ ). Com o aumento do tempo de exposição dos fibroblastos aos cimentos, houve também aumento da citotoxicidade para ambos os materiais ( $P < 0,001$ ). No grupo Barricaid, houve diferença entre os grupos 24h e 72h ( $P < 0,001$ ), 24h e 7d ( $P < 0,001$ ), e 72h e 7d ( $P < 0,001$ ). No grupo Periobond, houve diferença estatística entre os grupos 24h e 72h ( $P < 0,001$ ) e 24h e 7d ( $P < 0,001$ ), não havendo diferença entre os grupos 72h e 7d. Quando ambos os cimentos foram comparados entre si dentro dos mesmos períodos de avaliação, não houve diferença entre os grupos com o eludato de 24h, porém foram encontradas diferenças entre os cimentos nos períodos de 72h ( $P < 0,001$ ) e 7d ( $P < 0,05$ ).

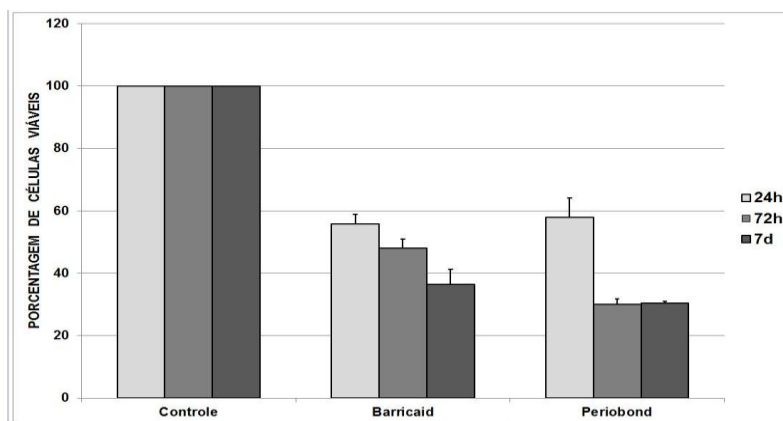


Figura 1: Porcentagem de células viáveis após 24h, 72h e 7 dias de exposição dos fibroblastos aos meio condicionados com os cimentos cirúrgicos Barricaid e Periobond

Nossos resultados corroboram com os de PETELIN et al. (2004), cimentos com base monomérica a exemplo do Barricaid são menos tóxicos do que os comercialmente disponíveis no sistema pasta-pasta.

De acordo com SUNZEL et al. (1997) a presença de zinco na composição do Periobond pode ser um dos responsáveis pelo aumento da toxicidade em comparação ao Barricaid. Também é conhecido como causador de inflamação moderada a severa quando implantado em alvéolos de dentes extraídos de ratos (SAITO et al., 2008).

Novos estudos devem ser realizados com materiais novos para a proteção de feridas, uma vez que um material que atende a todas as características ideais não foi encontrado até agora, especialmente do ponto de vista biológico. Esforços devem ser direcionados para melhorar a reparação da ferida cirúrgica periodontal e, conseqüentemente, restabelecer a função e a estética.

#### 4. CONCLUSÕES

Dentro dos limites deste estudo, foi possível observar que o cimento cirúrgico periodontal fotopolimerizado Barricaid apresenta menor toxicidade a fibroblastos em relação ao cimento de ativação química Periobond. Testes *in vivo* são necessários para confirmar os resultados no processo de cicatrização.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADDY, M.; DOLBY, A. E. The use of chlorhexidine mouthwash compared with a periodontal dressing following the gingivectomy procedure. **Journal of Clinical Periodontology**, v.3, n.1, p.59-65, 1976.
- BARKIN, M. E.; BOYD, J. P. et al. Acute allergic reaction to eugenol. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v.57, n.4, p.441-442, 1984.
- EBER, R. M.; SHULER C. F. et al. Effect of periodontal dressings on human gingiva fibroblasts in vitro. **Journal of Periodontology**, v.60, n.8, p.429-434, 1989.
- FARMAN, M.; JOSHI, R. I. Full-mouth treatment versus quadrant root surface debridement in the treatment of chronic periodontitis: a systematic review. **British Dental Journal**, v.205, n.9, p.496-7, 2008.
- GEURTSSEN, W.; LEHMANN, F. et al. Cytotoxicity of 35 dental resin composite monomers/additives in permanent 3T3 and three human primary fibroblast cultures. **Journal of Biomedical Materials Research**, v.41, n.3, p.474-480, 1998.
- HANKS, C. T.; STRAWN, S. E. et al. Cytotoxic effects of resin components on cultured mammalian fibroblasts. **Journal of Dental Research**, v.70, n.11, p.1450-1455, 1991.
- HAUGEN, E.; HENSTEN-PETTERSEN, A. The sensitizing potential of periodontal dressings. **Journal of Dental Research** v.57, n.11-12, p.950-953, 1978.
- HENN, S.; NEDEL, F.; DE CARVALHO, R.V., LUND, R.G., CENCI, M.S., PEREIRA-CENCI, T., DEMARCO, F.F., PIVA, E. Characterization of an antimicrobial dental resin adhesive containing zinc methacrylate. **The Journal of Materials Science**, v.22, n.8, p.1797-802, 2011.
- JORKJEND, L.; SKOGLUND L. A. Effect of non-eugenol- and eugenol-containing periodontal dressings on the incidence and severity of pain after periodontal soft tissue surgery. **Journal of Clinical Periodontology**, v.17, n.6, p.341-344, 1990.
- NEZWEK, R. A.; CAFFESSE R. G. et al. Connective tissue response to periodontal dressing. **Journal of Periodontology**, v.51, n.9, p.521-529, 1980.
- PETELIN, M.; PAVLICA, Z.; BATISTA, U.; STIBLAR-MARTINCIC, D.; SKALERIC, U. Effects of periodontal dressings on fibroblasts and gingival wound healing in dogs. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 52, n.1, p. 33-46, 2004.
- SAITO, C. T. M. H.; BARNABÉ, P.F.E.; OKAMOTO, T.; MURATA, S. S.; HAMATA, S. S.; SUNDEFELD, M. L. M. M. Evaluation of tissue response to periodontal dressings: histological study in tooth sockets of rats. **Journal of Applied Oral Science**, v. 16, n.3, p.219-225, 2008.
- SCHMALZ, G. The biocompatibility of non-amalgam dental filling materials. **European Journal of Oral Sciences**, v.106, n.2, p.696-706, 1998.
- SMEEKENS, J. P.; MALTHA J. C. et al. Histological evaluation of surgically treated oral tissues after application of a photocuring periodontal dressing material. An animal study. **Journal of Clinical Periodontology**, v.19, n.9, p.641-645, 1992.