

RESPOSTA DO TECIDO ÓSSEO AO MTA FILLAPEX COM E SEM ADIÇÃO DE ALUMINATO DE CÁLCIO E PRATA

SAMANTHA RODRIGUES XAVIER¹; LUIZA HELENA SILVA ALMEIDA¹; ANA PAULA NEUTZLING GOMES¹; RAFAEL RATTO MORAES¹; RENATA DORNELLES MORGENTAL²; FERNANDA GERALDO PAPPEN³

¹ Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Pelotas –
srodriguesxavier@hotmail.com

² Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Santa Maria

³ Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Pelotas –
ferpappen@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, novos materiais biocerâmicos estão sendo aplicados com propósitos endodônticos, incluindo cimentos reparadores e materiais obturadores dos canais radiculares, também chamados de bioagregados (DE DEUS et al., 2009; ZHANG et al., 2010; BIN et al., 2012). Esses materiais são reconhecidos por sua elevada biocompatibilidade e bioatividade, tendo em sua composição íons Ca^{2+} , K^{+} , Mg^{2+} e Na^{+} . (KALITA et al., 2007; GOU et al., 2004; NI et al., 2007). O MTA Fillapex (Angelus, Londrina, PR, Brasil) e o EndoSequence BC (Brasseler USA, Savannah, GA, EUA) são exemplos de bioagregados ou biocerâmicos utilizados para obturação do canal radicular, já disponíveis no mercado (BOSIO et al., 2014; XUEREB et al., 2015).

O MTA Fillapex foi desenvolvido para manter as propriedades biológicas do agregado convencional, e também melhorar suas características físicas e químicas (DE DEUS et al., 2009; DUBOK et al., 2009; VITTI et al., 2013). No entanto, estudos biológicos mostraram efeitos irritantes no tecido conjuntivo subcutâneo (BOSIO et al., 2014; TAVARES, et al., 2013) e no tecido ósseo (ASSMANN et al., 2015). Estudos de laboratório demonstraram que o MTA Fillapex é severamente citotóxico e genotóxico (BIN et al., 2012), com maior citotoxicidade do que os materiais obturadores convencionais, como o AH Plus (Dentsply De Trey GmbH, Konstanz, Alemanha) quando testados em células-tronco de dentes humanos (hTGSCs) (GUVEN et al., 2013). O EndoSequence BC foi desenvolvido recentemente, sendo um cimento biocerâmico injetável e pré-misturado, pronto para uso, na obturação dos canais radiculares, sendo que este material vem apresentando excelentes propriedades (ZHOU et al., 2013).

A adição de aluminato de cálcio ao MTA Fillapex foi idealizada de forma a tentar reduzir os efeitos citotóxicos dos componentes da resina residual através do aumento da reação química da hidratação (GARCIA et al., 2015). O aluminato de cálcio em contato com um ambiente úmido leva à formação das fases AH_3 ($\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) e C_3AH_6 ($3\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), seguidas de precipitação de hidratos de aluminato de cálcio (CAH) e hidróxido de alumínio (AH) devido à saturação da solução (ALT et al., 2003), associada à liberação de baixas quantidades de Ca^{++} , que mantém níveis de pH semelhantes aos dos tecidos corporais humanos (PIRES et al., 2013) e conduz à formação de uma fase de apatita carbonatada (LUZ et al., 2011). Já a adição dos íons prata, foi realizada com o intuito de otimização da ação antimicrobiana do material.

O objetivo do presente estudo foi avaliar as reações do tecido ósseo ao MTA Fillapex com e sem adição de aluminato de cálcio (C3A) ou aluminato de cálcio e

prata (C3A+Ag), em diferentes concentrações, nos fêmures de ratos da espécie Wistar. A hipótese testada é que a incorporação de partículas C3A e C3A + Ag ao MTA Fillapex é capaz de melhorar a biocompatibilidade do material.

2. METODOLOGIA

O Comitê de Ética em Pesquisa para Uso Animal da Universidade Federal de Pelotas (Pelotas, Brasil) aprovou este estudo sob o protocolo nº 4783. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as diretrizes institucionais para o cuidado e uso dos animais. As reações do tecido ósseo a diferentes grupos experimentais foram avaliadas em 45 animais após 3 períodos experimentais (7, 30 e 90 dias; n=5 por período). Os materiais testados foram: MTA Fillapex (Angelus, Londrina, PR, Brazil), AH Plus (Dentsply De Trey GmbH, Konstanz, Germany), EndoSequence (Brasseler USA, Savannah, GA, USA), MTA Fillapex + 10% C3A, MTA Fillapex + 10% (C3A+1%Ag), MTA Fillapex + 10% (C3A+5%Ag).

A metodologia foi uma adaptação de ASSMANN (2015). Os animais foram anestesiados com 0,008mL/100g de cetamina (Virbac do Brasil Industria e Comércio Ltda, São Paulo, SP, Brasil) e 0,004mL/100 g de cloridrato de xilazina a 2% (Virbac do Brasil Industria e Comércio Ltda). O fêmur do lado direito foi utilizado para intervenção. A tricotomia foi realizada e a área foi desinfetada com solução de iodo com álcool. Uma incisão de 5cm de comprimento foi feita na pele, os tecidos foram separados por camadas e o perióstio foi incisado com um bisturi. Três cavidades de 2mm de diâmetro foram preparadas na superfície cortical do fêmur, a aproximadamente 3mm de distância uma da outra, com uma peça de mão em baixa rotação e uma broca de aço esférica de número 6 (KG Sorensen, São Paulo, São Paulo, Brasil) sob irrigação constante com solução salina e aspiração.

A broca foi posicionada perpendicularmente ao fêmur até atingir a medula óssea. As cavidades cirúrgicas foram designadas aleatoriamente para grupos experimentais e grupo controle (cavidade vazia). Os materiais obturadores foram preparados de acordo com as instruções do fabricante e introduzidos em seringas de insulina (Injex Indústria Cirúrgica Ltda, Ourinhos, Brasil). Uma alíquota de 0,2mL de cada material obturador foi imediatamente inserida na cavidade respectiva. A ferida foi suturada em camadas (Vicryl Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil). Os animais foram eutanasiados aos 7, 30 e 90 dias após a intervenção (n=5/grupo em cada ponto do tempo). A perna operada foi desarticulada e dissecada para isolar o fêmur. Então, com um disco de diamante em baixa rotação (KG Sorensen, São Paulo, Brasil), o osso foi cortado transversalmente para separar as cavidades cirúrgicas. Cada fragmento foi armazenado individualmente em formalina 10% durante 48 horas.

Após fixação dos tecidos, foi realizado o processamento histológico e os eventos celulares e a condensação de fibras foram analisados qualitativamente de acordo com os critérios descritos por TAVARES (2013). O componente inflamatório celular foi determinado pela presença de neutrófilos, linfócitos, eosinófilos, macrófagos e células gigantes. Também foi analisada a formação da barreira do tecido rígido segundo ASSMANN (2015).

Os dados foram analisados estatisticamente e as diferenças entre os grupos foram calculadas usando o software SPSS for Windows, versão 21.0, considerando o p=0.5.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos 7 dias, a resposta inflamatória aguda, caracterizada pela presença de neutrófilos, foi significativamente diferente entre os grupos ($p=0.010$). A adição de partículas de prata significou um aumento do número de neutrófilos, enquanto eram raros os neutrófilos nos grupos AH Plus, MTA Fillapex e MTA Fillapex + 10% C3A, e ausentes na maioria das amostras do EndoSequence BC Sealer. A presença de linfócitos foi similar em todos os grupos ($p=0.114$), no entanto, eles estavam em menor número no grupo do EndoSequence BC Sealer group. Eosinófilos foram observados apenas nos espécimes contendo cimentos com partículas de prata ($p=0.001$).

Aos 30 dias, os macrofagos e os eosinófilos estavam ausentes em todos os grupos. Os neutrófilos estavam ausentes na maioria dos grupos, no entanto, foi observada inflamação aguda intensa em três espécimes do grupo MTA Fillapex ($p=0.032$). Os escores relativos à inflamação crônica também foram diferentes entre os grupos ($p=0.002$). Os linfócitos estavam ausentes em todas as amostras do EndoSequence BC Sealer, enquanto ainda estavam em grande número no grupo do MTA Fillapex. O MTA Fillapex modificado pela adição de C3A e C3A+Ag, apresentou menor reação inflamatória crônica aos 30 dias, se comparado ao material comercial.

A resposta inflamatória diminuiu significativamente de 30 para 90 dias em todos os grupos experimentais. A condensação das fibras foi semelhante entre os grupos aos 07 e 30 dias após a intervenção ($p>0,05$). No entanto, aos 90 dias, as fibras estavam ausentes na maioria dos espécimes do EndoSequence, AH Plus, MTA Fillapex e no grupo controle, enquanto ainda eram observados em amostras dos materiais obturadores modificados ($p<0,05$).

Aos 7 dias todos os grupos apresentaram menor deposição de tecido mineralizado em comparação aos 30 e 90 dias ($p<0.001$). A maioria dos espécimes do EndoSequence BC Sealer já apresentavam barreira completa após 30 dias da intervenção, enquanto a deposição de tecido duro era parcial nos outros ($p=0.028$). Aos 90 dias, todos os espécimes do AH Plus, EndoSequence e grupo controle apresentaram a formação completa da barreira do tecido duro. Por outro lado, a deposição parcial de tecido mineralizado foi observada no grupo MTA Fillapex, bem como nos grupos dos materiais obturadores modificados.

4. CONCLUSÕES

A modificação do MTA Fillapex pode gerar materiais mais compatíveis com os ossos, no entanto o EndoSequence demonstrou o melhor comportamento biológico entre os materiais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DE-DEUS, G.; CANABARRO, A.; ALVES G.; LINHARES, A.; SENNE, M.I.; GRANJEIRO, J.M. Optimal cytocompatibility of a bioceramic nanoparticulate cement in primary human mesenchymal cells. **Journal of Endodontics**, v. 35, p. 1387–90, 2009.
- ZHANG, W.; LI, Z.; PENG, B. Ex vivo cytotoxicity of a new calcium silicate- based canal filling material. **International Journal of Endodontics**, v.43, p. 769–74, 2010b.

- BIN C.V., VALERA M.C., CAMARGO S.E. Cytotoxicity and genotoxicity of root canal sealers based on mineral trioxide aggregate. **Journal of Endodontics**, v.38, p. 495–500, 2012.
- KALITA, S.J.; ABHILASHA, B.; HIMESH, A.B. Nanocrystalline calcium phosphate ceramics in biomedical engineering. **Biomaterials Science & Engineering**, v.3, p. 441-449, 2007.
- GOU, Z.; CHANG, J. Synthesis and in vitro bioactivity of calcium silicate powders. **Journal of the European Ceramic Society**, v.24, p. 93-99, 2007.
- NI, S.; CHANG, J.; CHOU, L.; ZHAI, W. Comparison of osteoblast-like cell responses to calcium silicate and tricalcium phosphate ceramics in vitro. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v.80, p.174-83, 2007.
- BÓRIO, C.C.; FELIPPE, G.S.; BORTOLUZZI, E.A.; FELIPPE, M.C.; FELIPPE, W.T.; RIVERO, E.R. Subcutaneous connective tissue reactions to iRoot SP, mineral trioxide aggregate (MTA) Fillapex, DiaRoot BioAggregate and MTA. **International Journal of Endodontics**, v.47, p. 667-674, 2014.
- XUEREB, M.; VELLA, P.; DAMIDOT, D.; SAMMUT, C.V.; CAMILLERI, J. In situ assessment of the setting of tricalcium silicate-based sealers using a dentin pressure model **Journal of Endodontics**, v.41, p.111-124, 2014.
- DUBOK, V.A. Bioceramics: yesterday, today, tomorrow. **Powder Metallurgy and Metal Ceramics**, v.39, p.381–94, 2009.
- VITTI, R.P.; PRATI, C.; SILVA, E.J. Physical properties of MTA Fillapex sealer. **Journal of Endodontics**, v.39, p.915-918, 2013.
- TAVARES, C.O.; BÖTTCHER, D.E.; ASSMANN E. Tissue reactions to a new mineral trioxide aggregate-containing endodontic sealer. **Journal of Endodontics**, v.39, p.6537, 2013.
- ASSMANN, E.; BÖTTCHER, D.E.; HOPPE, C.B.; GRECCA, F.S.; KOPPER, P.M. Evaluation of bone tissue response to a sealer containing mineral trioxide aggregate. **Journal of Endodontics**, v.41, p.62-6, 2015.
- GUVEN, E.P.; YALVAC, M.E.; KAYAHAN, M.B.; SUNAY, H.; SAHIN, F.; BAYIRLI, G. Human tooth germ stem cell response to calcium-silicate based endodontic cements. **Journal of Applied Oral Science**, v.21, p.351-357, 2013.
- ZHOU, H.M.; SHEN, Y.; ZHENG, W. Physical properties of 5 root canal sealers. **Journal of Endodontics**, v.39, p.1281–6, 2013.
- GARCIA, L.F.R.; CLAUDIA, H.U.C.K.; SCARDUELI, C.R.; COSTA, C.A.S. Repair of Bone Defects Filled with New Calcium Aluminate Cement (EndoBinder). **Journal of Endodontics**, v.41, p.864-70, 2014.
- A.L.T, C.; WONG, L.; PARR, C. Measuring castable rheology by exothermic profile. **Refract. Apple News**, v.8, p.15-18, 2003.
- PIRES-DE-SOUZA, F.D.E.; MORAES, P.C.; GARCIA, L.D.A.F. Evaluation of pH, calcium ion release and antimicrobial activity of a new calcium aluminate cement. **Brazilian Oral Research**, v.27, p.324–30, 2013.