

Citotoxicidade de materiais indicados em proteções pulpares diretas. Estudo *in vitro*

30



Fernandes, A; Paula, A; Laranjo, M; Abrantes, M; Botelho, F; Carrilho, E

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Introdução

A avaliação dos materiais dentários tem vindo a demonstrar particular interesse dado determinados componentes, poderem provocar efeitos citotóxicos em contacto com o complexo dentino-pulpar aquando dos procedimentos de proteções pulpares. Historicamente vários materiais foram utilizados nesse sentido, incluindo o hidróxido de cálcio, sendo atualmente considerados como “gold standard” os cimentos trióxidos minerais, como o MTA. A introdução de novos materiais semelhantes e com as mesmas indicações clínicas, como o novo cimento à base de silicato de cálcio (Biodentine™), exige a necessidade de testar as suas características citotóxicas, até ao momento parcamente investigadas.

Materiais e Métodos

A linha celular de fibroblastos humanos (HFF1 - ATCC® SCRC - 1041) foi incubada com diferentes diluições de Life®, White ProRoot® MTA e Biodentine™, utilizando a metodologia dos meios condicionados segundo a norma ISO 10993-5, durante 24, 72 e 120 horas. Os materiais foram manipulados de acordo com as recomendações do fabricante, colocados em placas de PVC com furos, de modo a obterem-se *pellets* com 3 mm de diâmetro e 1,5 mm de altura que, posteriormente, foram incubados durante 24 horas (Biodentine™) ou 72 horas (Life® e White ProRoot® MTA), de modo a permitir a tomada de presa dos materiais. Garantiu-se uma superfície de contacto de 82,4 mm² de material por ml de meio de cultura (Dulbecco's Modified Eagles's Medium (DMEM - D564 – Sigma)). A avaliação da atividade metabólica foi realizada através do ensaio do MTT, a avaliação do conteúdo proteico realizou-se através do ensaio da sulforrodamina B e a avaliação dos tipos de morte celular foi realizada através do ensaio da citometria de fluxo com a dupla marcação pela Anexina V e Iodeto de Propídeo.

Para a análise estatística utilizou-se o software IBM® SPSS® Statistics, versão 20.0 (IBM Corporation, Armonk, New York, EUA). Recorreu-se ao teste de Shapiro-Wilk, *t* de Student e Mann-Whitney. Todas as comparações foram corrigidas pelo método de Bonferroni.

Foi considerado um erro tipo I de 0,05 para todas as comparações.

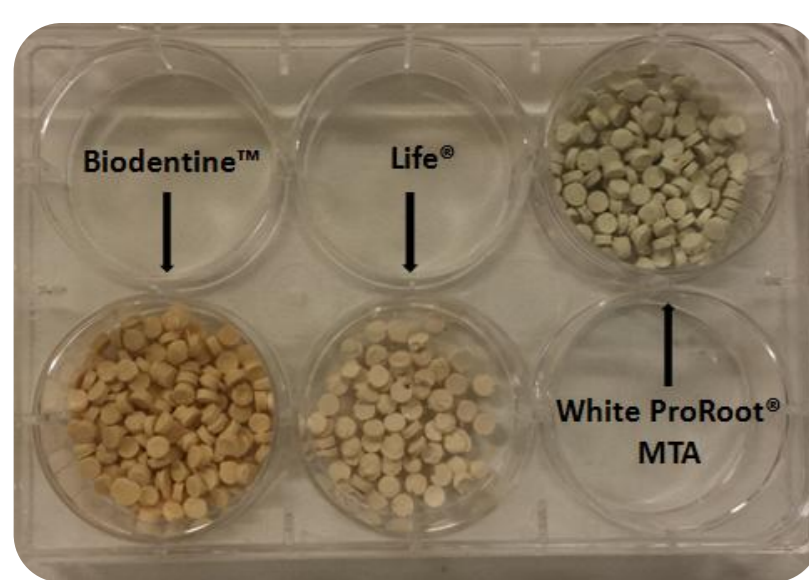


Figura 1: Distribuição dos materiais (cada poço contém um número conhecido de pellets).

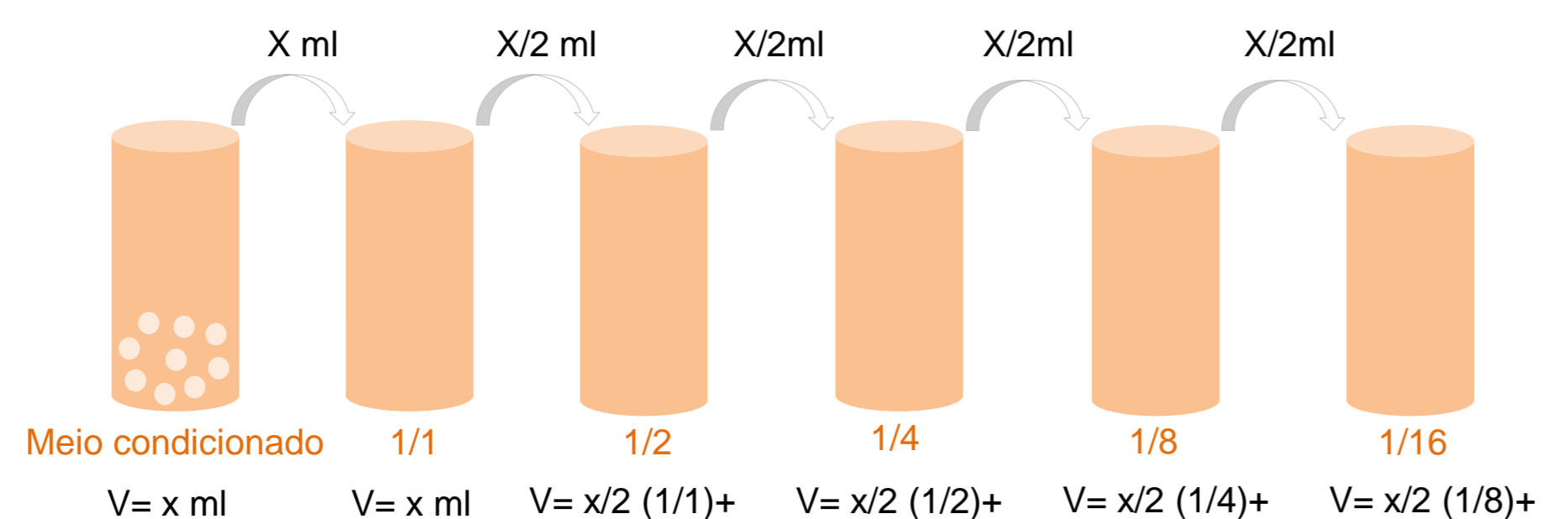


Figura 2: Esquema representativo da elaboração do meio condicionado e respetivas diluições

Conclusão

A citotoxicidade dos materiais depende da diluição do meio condicionado (Life® e Biodentine™) e do tempo de exposição (Life®, Biodentine™ e White ProRoot® MTA). A citotoxicidade do Life® é maior em concentrações mais elevadas, sendo um material com elevado padrão de solubilidade. O White ProRoot® MTA mostrou ser o material mais biocompatível com ausência de citotoxicidade mesmo em elevadas concentrações. O Biodentine™ apresentou citotoxicidade em concentrações mais elevadas. No entanto poderá pensar-se numa biocompatibilidade ao longo do tempo. Apesar das suas propriedades físicas, manuseamento e tempo de presa serem favoráveis, mais estudos a nível da citotoxicidade serão necessários para podermos categorizá-lo e utilizá-lo seguramente como uma alternativa viável ao White ProRoot® MTA.

Resultados

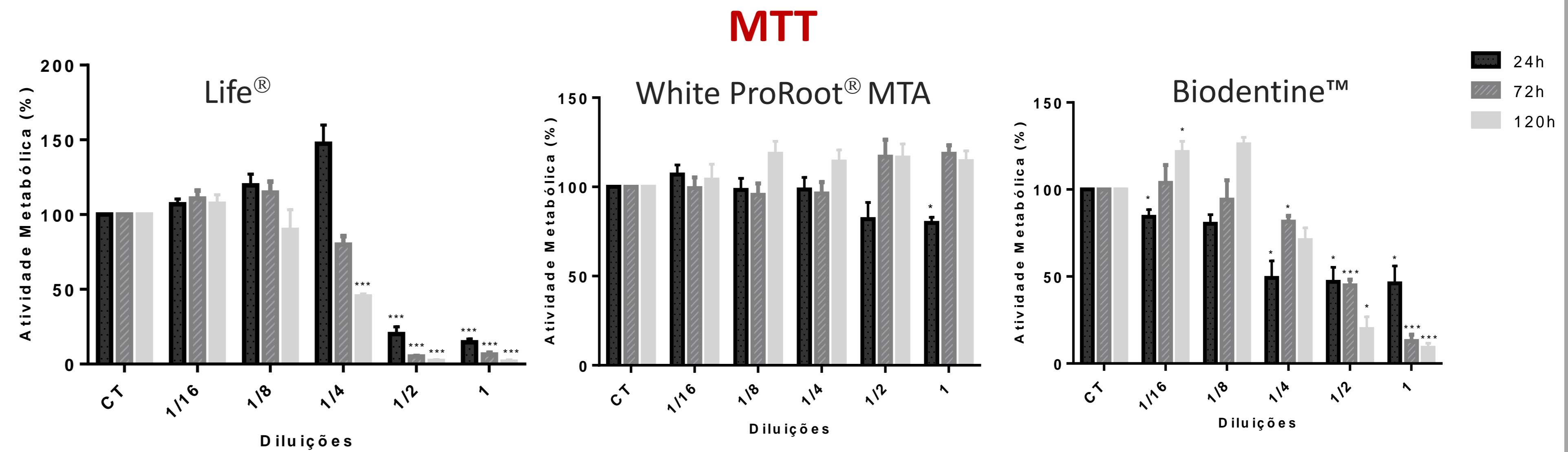


Figura 3: Atividade metabólica das células sujeitas aos meios condicionados e respetivas diluições para o ensaio do MTT. Os resultados expressam a média de pelo menos quatro ensaios. As diferenças estatisticamente significativas estão assinaladas com * (P<0,05); ** (P<0,01) ou *** (P<0,001).

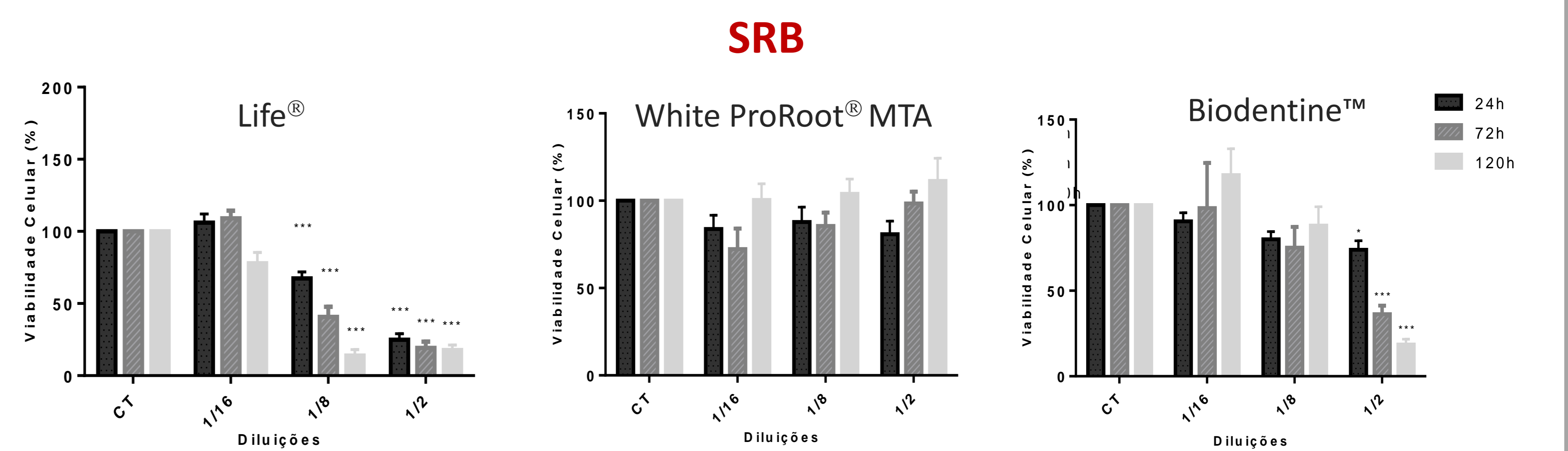


Figura 4: Viabilidade das células sujeitas aos meios condicionados e respetivas diluições para o ensaio do SRB. Os resultados expressam a média de pelo menos quatro ensaios. As diferenças estatisticamente significativas estão assinaladas com * (P<0,05); ** (P<0,01) ou *** (P<0,001).

Citometria de fluxo

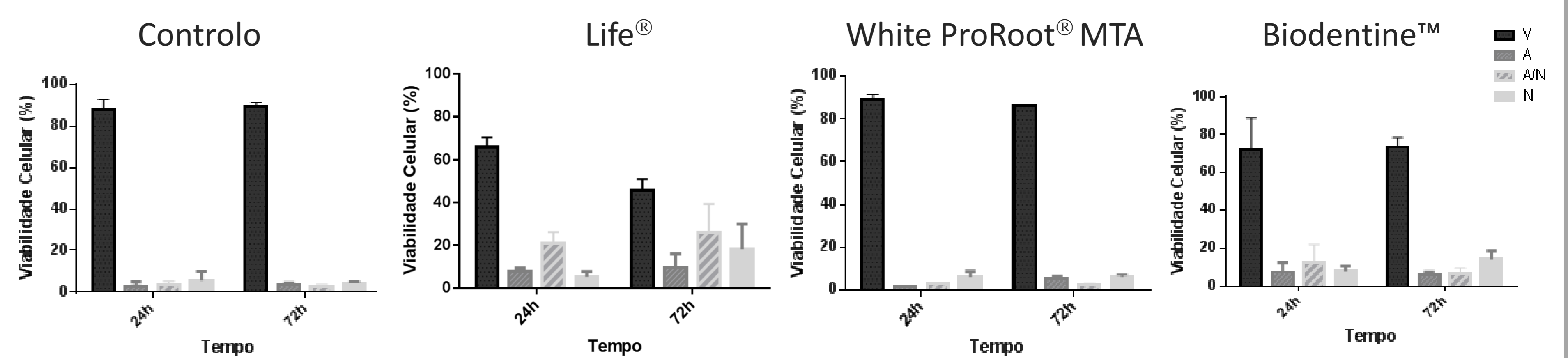


Figura 5: Análise da viabilidade celular por citometria de fluxo com a dupla marcação AnV / IP. Os valores obtidos resultam da média de ensaios preliminares com n=4 para os materiais Life® e Biodentine™ (duas experiências independentes) e n=2 para o material White ProRoot® MTA em que foi realizada apenas uma experiência. V: células vivas; A: células em apoptose; A/N: células em apoptose tardia/necrose; N: células em necrose.

MTT – Diluição 1/8

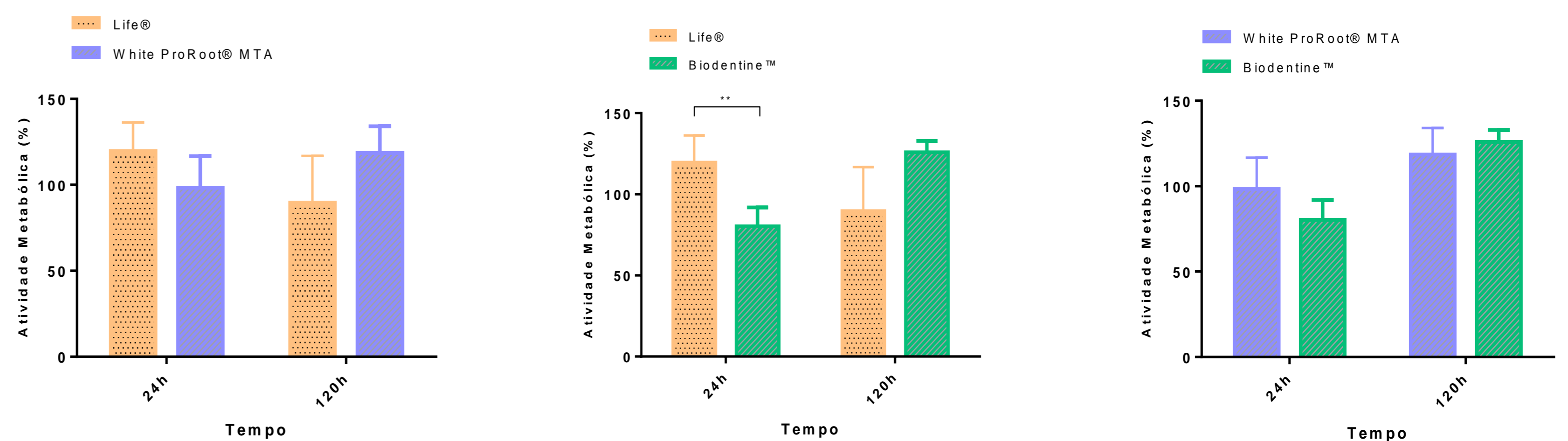


Figura 6: Atividade metabólica das células sujeitas ao meio condicionado na diluição de 1/8 comparativamente a diferentes materiais. As diferenças estatisticamente significativas estão assinaladas com * (P<0,05); ** (P<0,01) ou *** (P<0,001).

SRB – Diluição 1/8

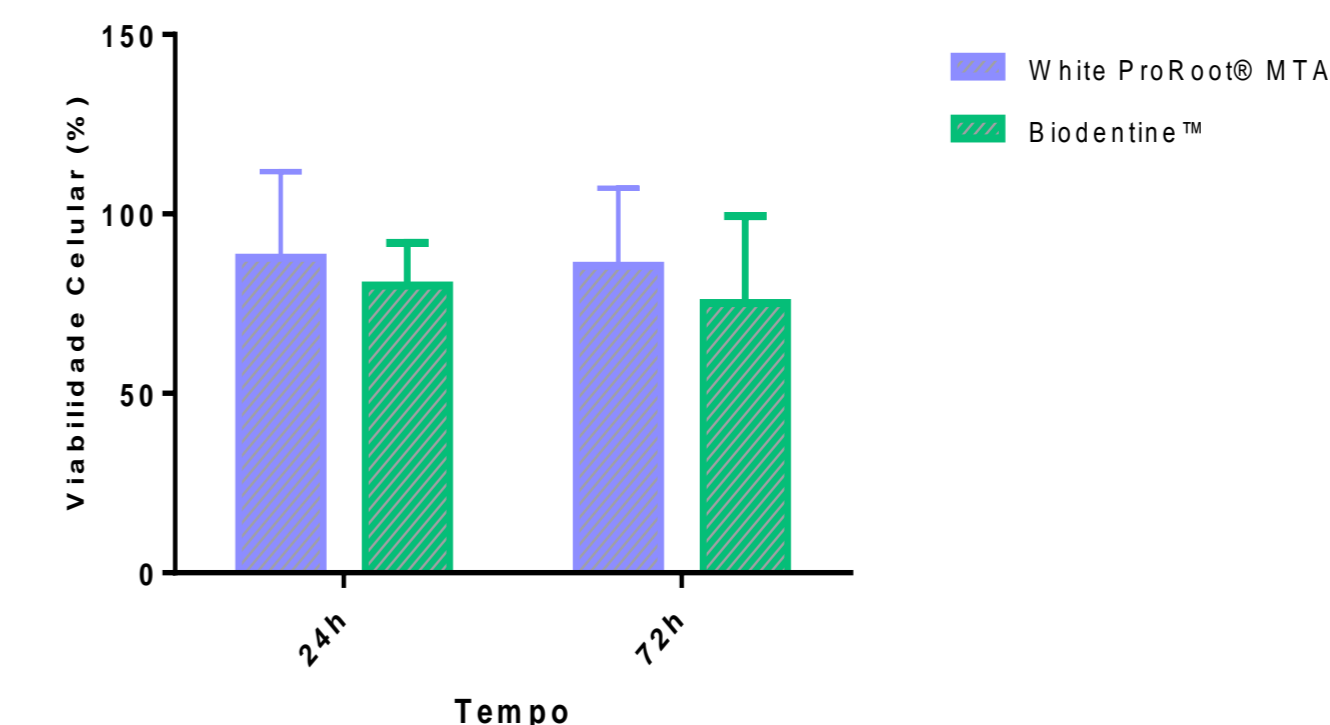


Figura 7: Viabilidade das células sujeitas ao meio condicionado na diluição de 1/8 comparativamente a diferentes materiais (White ProRoot® MTA vs Biodentine™).