

CITOTOXICIDADE IN VITRO DE UM NOVO CIMENTO RESINOSO AUTO-CONDICIONANTE. Andreza de Almeida, Carlos Alberto de Souza Costa, Adriano Augusto Melo de Mendonça, Josimeri Hebling, Pedro Paulo Chaves de Souza. – Inter-áreas Odontologia – Departamento de Fisiologia e Patologia - Faculdade de Odontologia - Campus de Araraquara.

Durante a confecção de preparos cavitários, componentes residuais do esmalte e dentina permanecem sobre as paredes cavitárias, dando origem a uma estrutura de espessura variável denominada de smear layer ^(11,15). Segundo estudos prévios, a presença destes resíduos sobre o substrato dentinário parece interferir com a penetração de componentes do sistema adesivo no interior da dentina, bem como diminuir a permeabilidade dentinária em até 86% ⁽¹²⁾. Este fato parece impedir o movimento dos monômeros para o interior dos túbulos dentinários, interferindo, assim com a formação da camada híbrida ^(6,7). Para que a união dentina e materiais resinosos seja adequada, recomenda-se a remoção da smear layer através da aplicação de substâncias ácidas sobre a dentina mais superficial. Desta forma, é possível que aconteça a remoção da smear layer das paredes da cavidade e a desmineralização da dentina intertubular superficial. ⁽⁹⁾. A aplicação adicional da resina sobre o substrato dentinário condicionado cria uma camada ácido-resistente bem como contribui para polimerização dos tags de resina no interior dos túbulos dentinários ^(10,14). Estes materiais resinosos parecem selar hermeticamente a interface entre o material restaurador e as paredes da cavidade, evitando microinfiltração bacteriana, manchamento marginal, cáries secundárias, e conseqüentemente resposta pulpar inflamatória ⁽¹⁾. Entretanto, estudos contemporâneos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que após a aplicação de sistemas adesivos na dentina condicionada, os componentes residuais não polimerizados da resina podem difundir através dos túbulos dentinários subjacentes ^(2,5). Estes componentes liberados da resina podem alcançar o tecido pulpar e iniciar uma resposta pulpar inflamatória crônica. Gerzina & Hume ⁽²⁾ demonstraram que mesmo os monômeros residuais da base dos materiais resinosos restauradores podem difundir através da camada híbrida permeável e dos túbulos dentinários para alcançar o espaço pulpar. Este fenômeno pode ser mais significativo com o passar do tempo, desde que muitos estudos têm relatado que uma contínua degradação das resinas compostas e outros materiais pode ocorrer mesmo após sua polimerização ^(4,13). Nesta situação específica, os odontoblastos, os quais se posicionam subjacentes a dentina, caracterizam a primeira linha de células pulpares a ser afetada pelos componentes residuais liberados dos materiais dentais usados para restauração da cavidade. Por esta razão, tem sido relatado que a linhagem de células odontoblásticas seria a mais apropriada para avaliar os possíveis efeitos tóxicos dos materiais restauradores *in vitro* ⁽⁸⁾. Na tentativa de impedir a difusão transdentinária de componentes residuais liberados dos materiais, bem como reduzir as etapas clínicas para execução de determinada restauração, novos produtos dentais, os quais modificam a smear layer e o substrato dentinário têm sido introduzidos no mercado. Entretanto, somente alguns dados a respeito dos efeitos citotóxicos destes materiais foram fornecidos. Conseqüentemente, o objetivo da presente pesquisa foi avaliar o efeito citotóxico de um material resinoso utilizado para cimentação de inlays e onlays, quando em contato com células imortalizadas de linhagem odontoblástica MDPC-23. Este material foi comparado com o cimento de hidróxido de cálcio, o qual é conhecido por diversas propriedades importantes, tal como biocompatibilidade.

Para a realização da presente pesquisa, foram confeccionados vinte e quatro corpos de prova utilizando uma matriz de polietileno com dimensões definidas. Os corpos de prova foram preparados com Hydro C (Grupo 1: HC, Caulk Dentsply, USA) e RelyXTM Unicem (Grupo 2: RU, 3M ESPE, USA). Para o Grupo 1, após inserção do material na matriz, foi aguardado o tempo de 3 minutos para que o material tomasse presa química. Para o Grupo 2, o material foi foto-ativado através da aplicação de luz visível (400mW/cm²) pelo tempo de 20 segundos em cada corpo de prova. Para que a superfície do corpo de prova pudesse ser obtida de forma regularizada e para que houvesse uma padronização entre a distância do material e a ponta do fotopolimerizador, foi utilizada uma lâmina de vidro sobre a extremidade aberta da matriz. Após a confecção dos corpos de prova, os mesmos foram imersos em meio de cultura (DMEM) e incubados por 24 horas na temperatura de 37°C com 95% de ar e 5% de CO₂. Células imortalizadas de linhagem odontoblástica MDPC-23 (30.000 células/cm²) foram semeadas em compartimentos de acrílico individualizados e incubadas por 72 horas. Após este período, o meio de cultura (DMEM) completo em

contato com as células foi aspirado e substituído pelo extrato obtido dos materiais. Para o Grupo 3 (controle), foi utilizado DMEM puro, sem contato com qualquer material. Após 24 horas de incubação destes extratos experimentais ou controle (DMEM) com as células, o metabolismo celular foi avaliado pela técnica do metiltetrazolium (MTT assay), a qual determina a atividade da enzima desidrogenase succínica produzida pelas mitocôndrias. Dois espécimes de cada grupo foram preparados para avaliação da morfologia celular em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os valores numéricos obtidos pelo teste de MTT (atividade metabólica das células), foram submetidos ao teste estatístico de Kruskal-Wallis.

Foi demonstrado que o HC (Grupo 1) apresentou maior efeito citotóxico sobre as células MDPC-23 quando comparado aos Grupos 2 (RU) e 3 (controle), sendo que esta diferença foi estatisticamente significativa (Figura 1). Por outro lado, a análise comparativa do metabolismo celular para os Grupos 2 (RU) e 3 (controle) demonstrou que não havia diferença estatística entre eles (Figura 1). A análise da morfologia celular em MEV determinou que para estes Grupos 2 e 3, o grande número de células MDPC-23 que permaneceram aderidas ao substrato, exibiam longos e finos prolongamentos citoplasmáticos que se originavam de sua membrana (Figuras 2 e 3). Para o Grupo 1, a maioria das células haviam se deslocado do substrato, sendo que as poucas células que foram observadas mostravam morfologia arredondada e com notável ruptura de membrana (Figura 4).

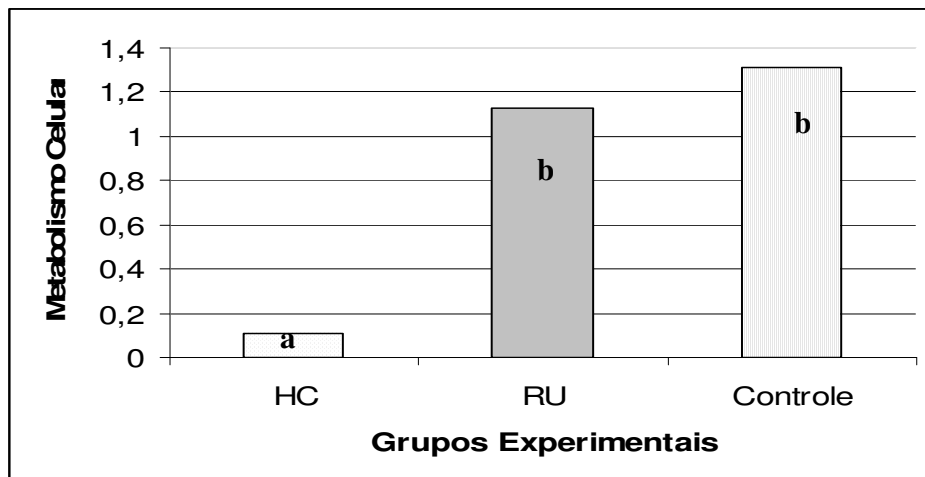


Figura 1: Gráfico de barras ilustrativo dos valores percentuais para os grupos experimentais e controle para o período de 24 horas. Letras iguais representam grupos experimentais sem diferenças estatisticamente significantes.

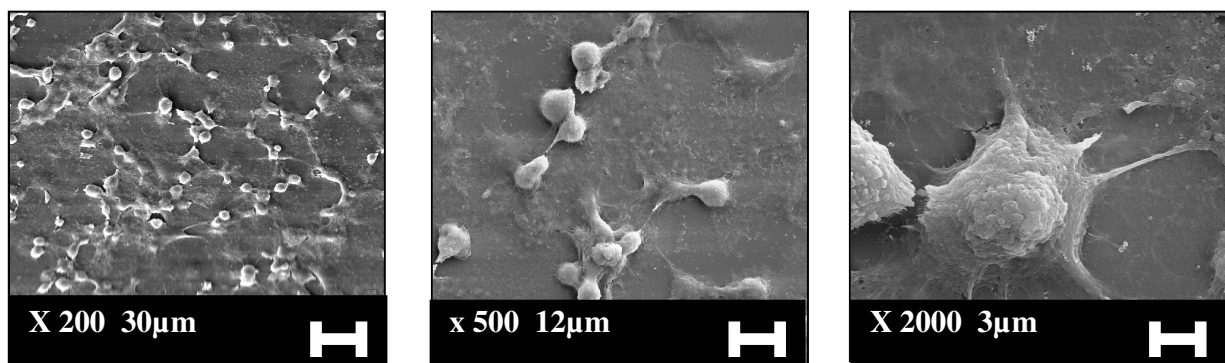


Figura 2, a/b/c: Fotos representativas de Microscopia Eletrônica de varredura nos aumentos de 200x, 500x e 1000x das células odontoblásticas quando em contato com extratos do Grupo 3 (controle).

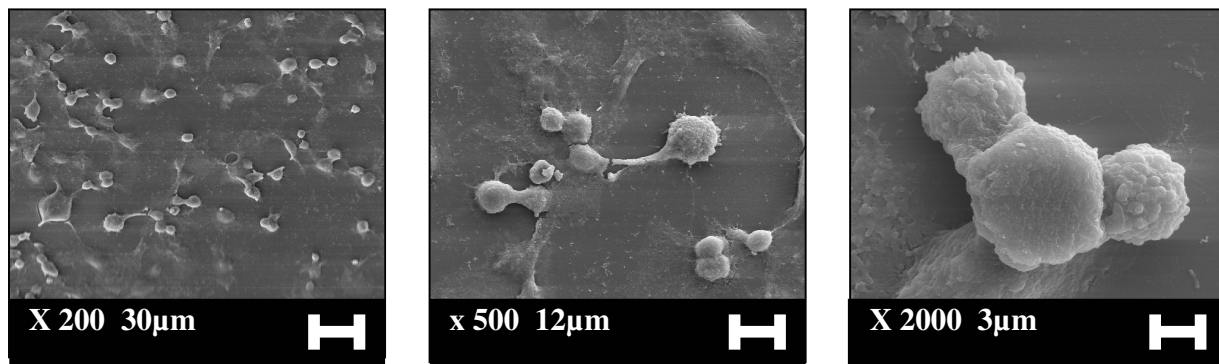


Figura 3, a/b/c: Fotos representativas de Microscopia Eletrônica de Varredura nos aumentos de 200x, 500x e 1000x das células odontoblásticas quando em contato com extratos do material experimental RelyX Unicem (Grupo 2).

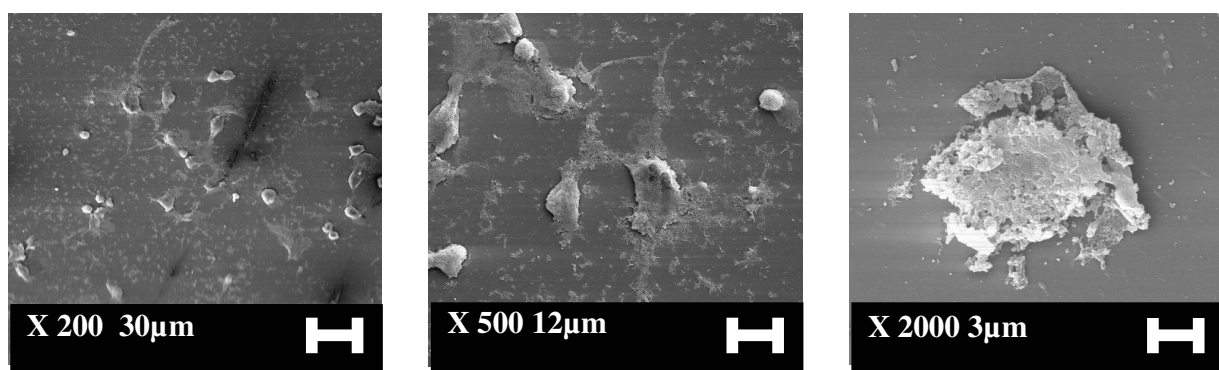


Figura 3, a/b/c: Fotos representativas de Microscopia Eletrônica de Varredura nos aumentos de 200x, 500x e 1000x das células odontoblásticas quando em contato com extratos do material experimental Hidróxido de Cálcio (Grupo 1).

Dentro das condições experimentais, foi possível concluir que dentre os materiais avaliados, o cimento de hidróxido de cálcio (Grupo 1) apresentou maior efeito citotóxico. Por outro lado, o cimento resinoso RU (Grupo 2) causou discreta redução no metabolismo das células MDPC-23.

Referências

1. DUKE, E.S. Adhesion and its application with restorative materials. **Dent Clin North Am.**, v.37, n.3, p.329-340 jul 1993.
2. GERZINA, T.M.; HUME, W.R. Diffusion of monomers from bonding resins-resin composite combinations through dentine in vitro. **J Dent.**, Bristol, v.24, n.1-2, p.125-128 jan-mar 1996.
3. GWINNETT, A.J.; TAY, F.R. Early and intermediate time response of the dental pulp to an acid etched technique in vivo. **Am J Dent.**, San Antonio, v.10, n. spec, p.35-44 jan 1998.

4. HAMID, A.; OKAMOTO, A.; IWAKU, M.; HUME, W.R. Component released from light-activated glass ionomer and compomer cements. **J Oral Rehabil.** Oxford., v.25, n.2, p. 94-99 fev. 1998.
5. HEBLING, J.; GIRO, E.M.A.; COSTA, C.A.S. Human pulp response after an adhesive system application in deep cavities. **J Dent.**, Bristol, v.27, n.8, p. 557-64 nov 1999.
6. KENSHIMA, S.; REIS, A.; UCEDA-GOMEZ, N.; TANCREDI, L. DE L.; FILHO, L.E.; NOGUEIRA, F.N.; LOGUERCIO, A.D. Effect of smear layer thickness and pH of self-etching adhesive systems on the bond strength and gap formation to dentin. **J Adhes Dent.**, New Malden v.7, n.2, p.117-126 summer 2005.
7. KING, N.M.; TAY, F.R.; PASHLEY, D.H.; HASHIMOTO, M.; ITO, S.; BRACKETT, W.W.; GARCIA-GODOY, F.; SUNICO, M. Conversion of one-step to two-step self-etch adhesives for improved efficacy and extended application. **Am J Dent.**, San Antonio. v.18, n.2, p.126-134 abril 2005.
8. MACDOUGALL, M.; SELDEN, J.K; NYDEGGER, J.R.; CARNES, D.L. Immortalized mouse odontoblast cell line MO6-G3 application for in vitro biocompatibility testing. **Am J Dent.** San Antonio, v.10, spec n., p.11-16 1997.
9. NAKABAYASHI, N.; KOJIMA, K.; MASUHARA, E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. **J Biomed Mater Res.**, v.16, n. 3, p. 265-273 maio 1982.
10. NAKABAYASHI, N. Dentinal bonding mechanisms. **Quintessence Int.**, v.22, n.2, p.73-74 fev. 1991.
11. PASHLEY, D.H.; MICHELICH, V.; KEHL, T. Dentin Permeability: effects of smear layer removal. **J Prosthet Dent.** St. Louis v.46, n.5, p. 531-537 Nov. 1981.
12. PASHLEY, D.H. Dynamics of the pulp-dentin complex. **Crit Rev Oral Biol Med.**, v. 7, n.2, p.104-133 1996.
13. SCHEDULE, A.; FRANZ, A.; RAUSCH-FAN, X.; SPITTLER, A.; LUCAS, T.; SAMORAPOOMPICHIT, P.; SPENCEER, W.; BOLTZ-NITULESEU, G. Cytotoxic effects of dental composites, adhesive substance, compomers and cements. **Dent Mater.**, Copenhagen. v.14, n.6, p. 429-440 nov 1998.
14. VAN MEERBEEK, B.; PERDIGÃO, J.; LAMBRECHTS, P.; VANHERLE, G. The clinical performance of adhesive. **J Dent.** Bristol, v.26, n.1, p.1-20 Jan 1998.
15. WATANABE, I.; NIKAI, T.; NAKABAYASHI, N. Effect of adhesion promotion monomers on adhesion to ground dentin. **J Jap Dent Mater.**, Tokyo. v.9, p. 888-893 1990.

Bolsa:- CNPq