



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXVI SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2022

Determinação de critérios microscópicos para avaliação da reação tecidual frente a diferentes cimentos endodônticos.

Gabriel Lins dos Santos¹; Dario Augusto Oliveira Miranda² e Alberto Consolaro³

1. Bolsista PROBIC/UEFS, Graduando em Odontologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail:

gb.lins97@gmail.com

2. Orientador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: daomiranda@uefs.br

3. Participante do projeto, Departamento de Saúde, Faculdade de Odontologia de Bauru (FOB), e-mail:

consolaro@uol.br

PALAVRAS-CHAVE: Engenharia tecidual; cimentos endodônticos; modelo animal.

INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico inclui a desinfecção e a modelagem do canal radicular, seguidas de sua obturação que visa um selamento tridimensional e hermético do espaço pulpar evitando sua recontaminação (Poggio et al., 2014). A obturação endodôntica convencional é realizada com cones de guta percha e cimentos endodônticos que selam os microrganismos nos túbulos dentinários de regiões intocadas pelas limas (Ikubo et al., 2019). Para realizar essa função, os cimentos devem aderir às paredes dentinárias e permanecer insolúveis após a sua presa (Zhong et al., 2019). Como os cimentos endodônticos podem entrar em contato direto com o tecido periodontal, através dos forames, por períodos prolongados, sua resposta tecidual é de fundamental importância (Barros et al., 2014), portanto, a compatibilidade tecidual e a baixa toxicidade são propriedades importantes para esses materiais (Schaeffer et al., 2005). Diferentes composições de cimentos foram desenvolvidas e empregadas com o objetivo de obter melhores propriedades físico-químicas (Ricucci et al., 2016). Os cimentos são divididos de acordo com sua composição química: óxido de zinco e eugenol, hidróxido de cálcio e resina epóxi e estes, foram, amplamente, pesquisados (Zhou & Wang, 2013). Para a resolução de casos específicos como reabsorções radiculares, perfurações, apicificações e obturações retrógradas, novos materiais com respostas teciduais promissoras estão sendo desenvolvidos, entre eles os cimentos biocerâmicos com propriedades de osteocondução (Jitaru et al., 2016). Recentemente, os cimentos biocerâmicos atraíram atenção considerável devido as suas propriedades físicas e biológicas como pH alcalino, estabilidade química em meio biológico e ausência de

contração de presa (Al-Haddad et al., 2016). Em busca de melhorar a qualidade, esses materiais têm incorporado novos componentes biocerâmicos e partículas inorgânicas como alumina, zircônia, vidro bioativo, cerâmica de vidro, hidroxiapatita, fosfato de cálcio, entre outros (Seltzer, 1999; Raghavendra et al., 2017). Embora os fabricantes afirmem que essas alterações viabilizam a otimização dessas propriedades, ainda são necessários estudos que confirmem a eficácia dessas formulações (Laukkanen et al., 2019). Vários modelos experimentais são utilizados para a avaliação do comportamento biológico de cimentos endodônticos, como a cultura de células e tecidos (Queiroz et al., 2005; Gandolfi et al., 2008); análise de reação em tecidos duros e moles, experimentos em animais e em seres humanos, para observar o comportamento das células frente aos materiais, antes e após a presa (Zhou & Wang, 2013) e experimentos com implantação dos materiais nos tecidos subcutâneos de animais (Bhambhani & Bolanos, 1993; Garcia et al., 2010; Edmond & John, 1949). Os estudos sobre o comportamento dos cimentos endodônticos, in vivo, em modelos animais, são ferramentas promissoras para uma melhor compreensão do processo inflamatório e de reparo, a curto e a longo prazo (Scelza et al., 2016). Isso posto, o objetivo deste estudo foi avaliar a resposta tecidual de diferentes cimentos endodônticos utilizando um modelo experimental animal.

MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA (ou equivalente)

A parte experimental desse estudo foi realizada no Biotério Central da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Foram seguidas as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). O protocolo de pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) e aprovada pela resolução CONSEPE N.º 017/2018. Seleção da amostra animal Foram selecionados, aleatoriamente, 80 ratos *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar. Os animais foram divididos, aleatoriamente em cinco grupos experimentais de acordo com o cimento endodôntico testado (n=16): Grupo AHP: cimento a base de resina epóxi (AH plus®, Dentsply, Konstant, Alemanha), Grupo PCS: cimento a base de óxido de zinco e eugenol (Pulp Canal Sealer®, Kerr, Scafati, Italy), Grupo MTA: cimento biocerâmico (MTA Flow®, Ultradent, South Jordan, USA), Grupo ESQ: cimento biocerâmico (Endosequence®, Brasseler, Savannah, USA) e o Grupo CON: grupo controle (ausência de cimento) (Tabela 1). Cada grupo foi subdividido em 2 grupos (n=8) de acordo com o período de avaliação de 30 e 60 dias. Os animais foram mantidos em caixas individuais, em condições ambientais de temperatura (22°C), luminosidade, umidade relativa de 50%. Foram alimentados com uma ração comercial sólida (Nuvilab® CR 1), e hidratados com água corrente ad libitum. Os animais foram monitorados diariamente, para certificação de conforto e ausência de infecções desde o início do cativeiro até seu sacrifício. Todos os procedimentos foram acompanhados por um médico veterinário. Os procedimentos foram realizados conforme o protocolo proposto por Spicer et al. (2012) para a manipulação de tecidos ósseos de calvaria de rato. A cavidade foi confeccionada na porção mediana da calota craniana de cada rato, entre os ossos parietais, com aproximadamente 6 mm de diâmetro e 1,5 mm de profundidade. Para isso foi utilizada uma broca trefina de 6mm de diâmetro interno (3i-Implants, Flórida, EUA), montada em

um contra-ângulo com redução 1:20, acoplado a um motor para implantes (Driller BLM 600 plus, SP, Brasil) e acionada a uma velocidade 1.500 rpm sob irrigação externa peristáltica com solução fisiológica salina 0,9%. Os cimentos endodônticos foram preparados de acordo as instruções dos fabricantes e levados nas cavidades ósseas utilizando seringas de insulina na quantidade de 0,02 mL de forma a não transbordar e exceder os limites da osteotomia. No grupo controle nos quais o material não foi inserido, a cavidade foi preenchida apenas pelo coágulo sanguíneo. Os tecidos foram reaproximados com uma sutura simples, e a pele com pontos simples separados, empregando-se fio de náilon 5-0. As suturas foram removidas e não foram utilizadas medicações antibióticas ou anti-inflamatória, somente analgésicas pós-operatórias. Eutanásia. Preparação e análise microscópica. As peças cirúrgicas foram preparadas e fixadas em solução de formol a 10%, por aproximadamente sete dias. A descalcificação do osso será feita usando a solução de Morse (ácido fórmico e citrato de sódio). A solução foi trocada duas vezes por semana até o processo estar completo. Os cortes macroscópicos para obtenção das lâminas serão realizados por um mesmo pesquisador por meio de cortes na região anterior aos olhos (focinho) e lateralmente às orelhas; além desses cortes, também será realizado um corte frontal – no sentido de preservar apenas a região superior do cérebro e o crânio –, e um corte axial perpassando pelo meio do defeito. Após isso, as peças serão desidratadas e incluídas em parafina. Este método consiste em algumas etapas padrão: lavagem, desidratação em álcool 70%, 80%, 90%, seguido de inclusão em parafina a 62° C sob vácuo durante 6 horas, usando ponto de fusão elevado. Após a inclusão em parafina serão feitos cortes histológicos de 5µm utilizando um micrótomo. Os cortes serão corados por Hematoxilina-Eosina (HE) e pelo Tricômico de Masson para distinguir diferentes tipos de células. As lâminas serão fotografadas e examinadas por três patologistas experientes, como observadores cegos previamente calibrados para o ambiente da pesquisa. O processo inflamatório será avaliado. A identificação e caracterização da morfologia celular serão realizadas através da coloração HE. A classificação seguiu os parâmetros propostos por Tavares et al. (2013) (25) e Assmann et al. (2015) (26), modificados. O reparo tecidual será avaliado pela ausência ou presença de tecidos de granulação (TG), vasos sanguíneos (VS), fibroblastos (F), matriz óssea mineralizada (MOM), granuloma de corpo estranho (GCE), macrófagos (M) e células gigantes multinucleadas inflamatórias (CGM) (Miranda, 2013; Consolaro, 2014).

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO (ou Análise e discussão dos resultados)

O resultado proposto, foi de esperar encontrar uma variação na resposta inflamatória nos diferentes grupos de estudo. Desde resposta inflamatória de alta intensidade durante as duas primeiras semanas a uma diminuição gradual e desaparecimento completo de todos os processos inflamatórios e mesmo formação de novo osso ao fim da experiência.

Obteve-se assim a análise descritiva dos cortes microscópicos encontrado no grupo controle. No entanto, a calvária dos animais encontram-se no laboratório de anatopatologia no CION (UEFS) no formol, esperando materiais para o processamento microscópico, assim como funcionário técnico para para realização dos cortes.

GRUPO 1 CONTROLE 30 DIAS

Nas margens do defeito ósseo observou-se osteogênese e arredondamento do osso caracterizado por numerosas células e camadas aposicionais. Em todo o defeito ósseo, a área cerebral estava recoberta com tecido conjuntivo bem organizado, com feixes de colágeno delicados que se continuavam naturalmente com o perióstio vizinho. Não se notava qualquer atividade osteogênica, apenas fibra óssea. Havia discreto e difuso infiltrado celular mononuclear.

GRUPO 1 CONTROLE 60 DIAS

De forma organizada o defeito ósseo estava recoberto por tecido conjuntivo fibroso com fibras colágenas bem evidenciadas. A estrutura membranosa formada continuava sem solução de continuidade com o perióstio das margens cirúrgicas. Nas margens cirúrgicas, o reparo ósseo arredondado caracterizava-se por uma osteogênese discreta, com osso depositado em camadas e ricamente celularizado. Havia discreto e difuso infiltrado celular mononuclear.

CONSIDERAÇÕES FINAIS (ou Conclusão)

Através da possibilidade de análise e comparação histológica dos primeiros grupos do estudo, foi possível observar que o grupo controle, no qual somente passou pela intervenção cirúrgica, sem nenhum tipo de deposição de material exógeno, apresentou uma discreta e difusa resposta inflamatória, concomitantemente com uma organização celular rápida e bem organizada, sendo observado reestruturação das fibras ósseas com posterior osteogênese nas margens dos defeitos.

REFERÊNCIAS

- 1) Spicer PP, Kretlow JD, Young S, Jansen JA, Kasper FK, Mikos AG. Evaluation of bone regeneration using the rat critical size calvarial defect. *Nature Protocols* 2012;7(10):1918-1929.
- 2) Raghavendra SS, Jadhav GR, Gathani KM, Kotadia P. Bioceramics in endodontics - a review. *J Istanbul Univ Fac Dent* 2017;51(3 Suppl 1):S128-S137.