## RESUMO EXPANDIDO

**CAPACIDADE DE REPARO TECIDUAL APÓS A IMPLANTAÇÃO DE CIMENTOS ENDODÔNTICOS BIOCERÂMICOS EM TECIDO SUBCUTÂNEO DE RATO**

**George Sampaio Bonates dos Santos 1, Etevaldo Matos Maia Filho 2**

1Uniceuma-MA, (georgebonates@gmail.com) 2 Uniceuma-MA, (matosmaiafilho@hotmail.com) .

**Área Temática:** Ciências da Saúde.

**E-mail do autor para correspondência:** georgebonates@gmail.com

**RESUMO**

**Introdução:** A remodelação do colágeno é importante para a cura de muitas doenças humanas, bem como para o desenvolvimento e regeneração normal do tecido. As propriedades específicas das matrizes de colágeno, têm um impacto direto na adesão celular, propagação e taxas de proliferação. A densidade das fibras colágenas permite uma análise do efeito do tratamento e o reparo pós-operatório. **Objetivo:** Avaliar a capacidade de reparo tecidual, por meio da quantificação de fibras colágenas tipo I e III, de quatro cimentos endodônticos biocerâmicos (Endosequence BC Sealer, Bio C Sealer, Bioroot RCS e o Sealer Plus BC). **Metodologia:** Após a aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade Unicristus, Fortaleza-CE, Brasil com protocolo no 008/20. Tubos de polietileno com 1,5 mm de diâmetro e 1 cm de comprimento contendo os cimentos endodônticos, foram implantados em tecido subcutâneo de 5 ratos (Rattus novergicus albinus Winstar). Após 14 dias, os animais foram eutanasiados e as fibras colágenas foram quantificadas a partir de cortes histológicos. **Resultados e Discussão:** Após a análise estatística por regressão gama com função de ligação log, houve diferença significativa entre os cimentos para os colágenos tipo I (p=0,001), tipo III (p=0,023) e colágeno total (p=0,002). O cimento Bioroot foi estatisticamente superior aos demais, com exceção para colágeno tipo III na qual não houve diferença entre o cimento Bioroot e o cimento Bio C Sealer e o grupo controle (p>0,05). Em relação à biocompatibilidade o cimento Bioroot RCS mostrou melhores resultados que outros cimentos de bases diferentes e também melhores do que outros com a mesma composição de silicato de cálcio. Provavelmente esse efeito está relacionado ao potencial bioativo desse cimento, pois essa característica é um fator chave na promoção da regeneração tecidual. **Conclusão:** O cimento endodôntico biocerâmico Bioroot RCS foi capaz de estimular uma maior produção de colágeno.

**Palavras-chave:** Colágeno Tipo I; Colágeno Tipo III; Silicato de cálcio.

**INTRODUÇÃO**

De acordo com Santos et al. (2019), os cimentos endodônticos devem ser biocompatíveis, pois componentes presentes na composição podem induzir irritação ou inflamação persistente, especialmente quando extravasados nos tecidos perirradiculares (DA SILVA et al., 2018). No entanto, a maioria é tóxica principalmente quando são recém preparados e portanto, deve ser submetidos a testes que comprovem o uso seguro sob condições clínicas (TAHA et al., 2016).

A biocompatibilidade descreve a capacidade de um material ou substância funcionar com uma resposta apropriada do hospedeiro quando aplicado conforme pretendido, enquanto que bioatividade seria a estimulação de uma resposta tecidual desejada.. As propriedades específicas das matrizes de colágeno, tanto em termos de características físicas quanto químicas, têm um impacto direto na adesão celular, propagação e taxas de proliferação (ABRAHAM et al., 2008).

As fibras colágenas do tipo I são caracterizadas por produzirem pele, osso e tendões. São indicativas de cura, reparo e tecido cicatrizado por completo. Já aquelas do tipo III são precursores de pele, músculos e vasos e responsáveis pela manutenção da estrutura de órgãos internos (ABRAHAM et al., 2008).

Os cimentos biocerâmicos vêm sendo testados quanto as suas propriedades. Colombo et al. (2018) compararam as propriedades biológicas. Já Benetti et al. (2019) avaliaram “in vivo” a biocompatibilidade e citotoxicidade por meio da linhagem de células fibroblásticas. Zordan-Bronzel et al. (2019) avaliaram o escoamento, tempo de presa, solubilidade e alteração volumétrica. Nesses estudos, os cimentos biocerâmicos apresentaram boa propriedades físico-químicas, tais como pH alcalino, biocompatibilidade, citotoxicidade baixa, escoamento, radiopacidade, atividade antimicrobiana e tempo de presa adequados. Outra vantagem é a liberação de íons cálcio e fosfato, fatores que induzem a regeneração tecidual óssea. No entanto, existem poucos estudos avaliando o comportamento desses cimentos em relação ao estímulo a formação de fibras colágenas.

**OBJETIVO**

O objetivo do presente estudo foi avaliar a capacidade de reparo, pelo método da análise quantitativa de fibras colágenas tipo I e III em tecido subcutâneo de rato, de quatro cimentos endodônticos biocerâmicos.

**METODOLOGIA**

O presente estudo se enquadra por ser um estudo experimental e foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Odontologia da Universidade Unicristus, Fortaleza-CE, Brasil com protocolo no 008/20.

Foram utilizados cinco ratos (Rattus novergicus albinus Wistar), adultos-jovens, sexo masculino, pesando entre 250-300g, com idade de aproximadamente 75 dias.

Os cimentos testados foram o Endosequence BC Sealer (Brasseler), Bio C Sealer (Angelus), Bioroot RCS (Septodont) e o Sealer Plus BC (MKLife).

O cimento Bioroot RCS foi preparado de acordo com as instruções dos fabricantes, já os demais estavam prontos para o uso e inseridos em tubos de polietileno com aproximadamente 1 cm de comprimento e 1,5 mm de diâmetro (quatro contendo os cimentos e um sem material) e implantados no tecido subcutâneo dorsal dos animais.

Para a implantação dos tubos, os animais foram anestesiados com injeção intra-peritoneal de uma mistura de 80 mg/kg de cloridrato de cetamina a 10% (Alfasan, Woerden, Holanda) e 20 mg/kg de cloridrato de xilazina a 2% (Alfasan, Woerden, Holanda). A tricotomia dorsal foi realizada manualmente em 5 áreas de aproximadamente 10 cm2. Foi realizada desinfecção com solução de clorexidina a 2%. Cinco incisões de 2 cm de comprimento foram feitas no dorso dos animais. Usando uma tesoura de ponta romba foram realizadas aberturas laterais no tecido subcutâneo fornecendo 5 cavidades cirúrgicas exibidas em quadrantes equidistantes do centro do dorso dos animais. Os tubos preenchidos com os materiais foram inseridos imediatamente nas cavidades cirúrgicas paralelas à incisão.

As incisões foram fechadas com fio de seda 3-0 (Supa, Teerã, Irã) e a região foi novamente desinfectada com spray de clorexidina a 2%. Todos os animais foram eutanasiados após 14 dias por sobredose de xilazina e quetamina (160 mg/kg e 80 mg/kg). As áreas dos tubos juntamente com 1 cm de tecido ao redor do implante foram excisadas e fixadas em formalina tamponada a 10% (Merck, Darmstadt, Alemanha) e fixadas por 24 horas.

Em seguida, os tubos de polietileno foram retirados das amostras e o tecido remanescente ao redor foi acondicionado em blocos de parafina e processados para análise histológica. Os cortes de 3 µm foram dispostos em lâminas de vidro e desparafinizados em estufa a 60ºC por 3 horas e três banhos de xilol (5 minutos). Após reidratação em série decrescente de álcool, as lâminas foram incubadas em solução de picrosirius (Williams & Wilkins, Baltimore, EUA) por 30 minutos e então lavadas rapidamente em dois banhos de ácido clorídrico a 5%, contra-coradas com hematoxilina de Harris por 45 segundos e montadas com Enhtellan®. Cinco campos (200x) foram selecionados e fotografados na forma convencional e sob luz polarizada por uma câmera (U-TV0.63XC, Olympus®) acoplada ao microscópio BX43 (Olympus® com o software Olympus Soft Imagining LCMicro software) utilizando ampliação 400x e exportado para o ImageJ® (Instituto Nacional de Saúde, Maryland, EUA).

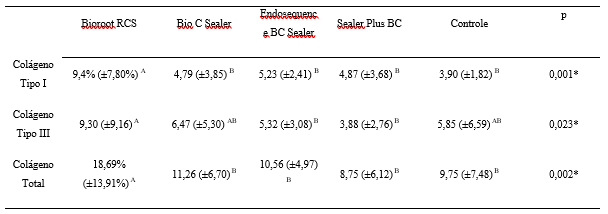
As áreas de tecido conjuntivo do subcutâneo dos ratos foram submetidas à análise por Picrosirius Red para verificação da quantidade e tipificação de deposição do colágeno. Essa técnica confere coloração avermelhada para áreas colagenizadas e através de polarização de luz sugere uma possível distinção entres os tipos de colágeno por meio da birrefringência vermelho-amarelada e verde-esbranquiçada. Para a análise de colágeno total, as fotomicrografias foram avaliadas pelo software ImageJ® (http://rsbweb.nih.gov/ij/), após calibração das imagens pelo comando Color Thershold (Image > Adjust > Color Thershold) na função RGB para as cores vermelho (mínimo de 71 e máximo de 255), verde (mínimo de 0 e máximo de 69) e azul (mínimo de 0 e máximo de 92).

Para as imagens polarizadas, o mesmo protocolo foi realizado ajustando-se as cores na função RGB para: vermelho (mínimo de 0 e máximo de 255), verde (mínimo de 0 e máximo de 255) e azul (mínimo de 0 e máximo de 32). Após ajuste, as imagens foram convertidas para escala de cor de 8-bits (Image > Type > 8-bit), binarizadas (Process > Binary > Make Binary) e mensurada a porcentagem de área de colágeno marcada em amarelo-avermelhado relativa à área marcada em vermelho. A área verde-esbranquiçada foi obtida através de processo semelhante ao descrito anteriormente, alterando-se os canais de cores RGB para: vermelho (mínimo de 0 e máximo de 65), verde (mínimo de 0 e máximo de 255) e azul (mínimo de 0 e máximo de 255) (OKAMURA et al., 2020).

As fibras colágenas mais espessas e fortemente birrefringentes se apresentaram coradas de tons de amarelo a vermelho, sugerindo o colágeno tipo I, enquanto as fibras mais finas e dispersas, fracamente birrefringentes, apresentaram-se coradas de verde, sugerindo o colágeno tipo III.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A tabela 1 mostra os valores percentuais médios, juntamente com o desvio padrão, da quantidade de colágenos tipo I, III e colágeno total de acordo com o cimento avaliado e o grupo controle.



\* p<0,005 – diferença significativa.

Letras diferentes na horizontal = diferença estatística significativa (teste de Dunn)

Os valores médios de colágenos foram maiores para o cimento Bioroot independentemente do tipo de colágeno em análise.

Houve diferença significativa entre os cimentos para os colágenos tipo I (p=0,001), tipo III (p=0,023), e colágeno total (p=0,002). Na tabela 2 pode ser observado a comparação dois a dois por meio das letras sobrescrita na horizontal. Letras diferentes representam diferença estatística significativa (p<0,05).

No geral, o cimento Bioroot foi estatisticamente superior que os demais cimentos, com exceção na análise do colágeno tipo III na qual não houve diferença entre o cimento Bioroot e o cimento Bio C Sealer e o grupo controle (p>0,05).

**CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Sob as condições deste estudo, o cimento endodôntico biocerâmico Bioroot RCS foi capaz de estimular uma maior produção de colágeno.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ABRAHAM, L. C. et al. Guide to collagen characterization for biomaterial studies. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials,** v. 87, n. 08, p. 264-285,2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31078>. Acesso em: 03/08/22;

BENETTI, F. et al. Cytotoxicity and biocompatibility of a new bioceramic endodontic sealer containing calcium hydroxide. **Brazilian Oral Research,** v. 33, n. 42, p. 231-240,2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2019.vol33.0042>. Acesso em: 03/08/22;

COLOMBO, M. Biological and physico-chemical properties of new root canal sealers. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**, v. 10, n. 5, p. 120-126, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.4317/jced.54548>. Acesso em: 03/08/22;

DA SILVA, L. A. B. et al. Novel endodontic sealers induced satisfactory tissue response in mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 106, n. 8, p. 1506-1512, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.065>. Acesso em 03/08/22;

OKAMURA, T. et al. Biocompatibility of a High-Plasticity, Calcium Silicate-Based, Ready-to-Use Material. Materials, **Basel**, v. 37, n. 9, p. 245-254, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ma13214770>. Acesso em: 03/08/22;

SANTOS, J. M. et al. Biocompatibility of a bioceramic silicone-based sealer in subcutaneous tissue. **Journal of Oral Science,** v. 61, n. 2, p. 171-177, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.2334/josnusd.18-0145>. Acesso em: 03/08/22.;

TAHA, N.A. et al. Biocompatibility Evaluation of EndoSequence Root Repair Paste in the Connective Tissue of Rats. **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 6, p. 1523-1528, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.07.017>. Acesso em 03/08/22;

ZORDAN-BRONZEL, C.L. et al. Evaluation of Physicochemical Properties of a New Calcium Silicate-based Sealer, Bio-C Sealer. **Journal of Endodontics,** v.45, n. 4, p. 1248-1252, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.07.006>. Acesso em: 03/08/22.