

**Análise da citotoxicidade do agregado de trióxido mineral  
(MTA-Branco) em cultura de odontoblastos. Influência dos tempos  
de presa e do armazenamento do material em meio líquido**

*Patrícia Gonçalves FREDERICO<sup>a</sup>, Célia Regina Moreira LANZA<sup>b</sup>,*

*Andreza Maria Fábio ARANHA<sup>c</sup>, Josimeri HEBLING<sup>d</sup>,*

*Carlos Alberto de Souza COSTA<sup>e</sup>*

<sup>a</sup>*Bolsista PIBIC/CNPq, Departamento de Fisiologia e Patologia,  
Faculdade de Odontologia, UNESP, 14801-903 Araraquara - SP*

<sup>b</sup>*Professora Assistente, Faculdade de Odontologia, UFMG,  
31270-901 Belo Horizonte - MG, Brasil*

<sup>c</sup>*Doutoranda em Ciências Odontológicas, Área de Concentração Odontopediatria,  
Faculdade de Odontologia, UNESP, 14801-903 Araraquara - SP, Brasil*

<sup>d</sup>*Departamento de Clínica Infantil, Faculdade de Odontologia, UNESP,  
14801-903 Araraquara - SP, Brasil*

<sup>e</sup>*Departamento de Fisiologia e Patologia, Faculdade de Odontologia, UNESP,  
14801-903 Araraquara - SP, Brasil*

Frederico PG, Lanza CRM, Aranha AMF, Hebling J, Costa CAS. Analysis of the cytotoxicity of a mineral trioxide aggregate (White-MTA) on cultured odontoblasts. Influence of the setting time and storage of the material in wet environment. Rev Odontol UNESP. 2006; 35(4): 319-326.

**Resumo:** O agregado de trióxido mineral - MTA-Branco (Angelus - Ind. Com. Ltda, Br.) é um material nacional para uso na clínica endodôntica que apresenta custo inferior a outros cimentos MTA disponíveis no mercado. Como pouco se sabe de seus efeitos sobre células pulpares, o objetivo da presente pesquisa foi avaliar a citotoxicidade dessa formulação de MTA em cultura de células odontoblastóides MDPC-23. Corpos-de-prova foram preparados e imersos em meio de cultura (DMEM) puro após 1 hora (presa incompleta) ou 4 horas (presa completa) de sua manipulação, onde permaneceram pelos períodos de 24 horas ou 7 dias, determinando os grupos experimentais seguintes: G1: 1 hora de tempo de presa/24 horas de imersão; G2: 4 horas de tempo de presa/24 horas de imersão; G3: 1 hora de tempo de presa/7 dias de imersão; e G4: 4 horas de tempo de presa/7 dias de imersão. Células MDPC-23 (30.000 células/cm<sup>2</sup>) foram cultivadas em placas de 24 compartimentos, e, após 72 horas de incubação, o meio DMEM foi aspirado e substituído pelos extratos obtidos do MTA-Branco. Nos grupos controle (G5 e G6), DMEM puro foi utilizado. O pH dos extratos e o do DMEM puro foram determinados, mostrando baixa variação entre os grupos (de 8,4 até 8,9). O efeito citotóxico foi avaliado por meio da análise colorimétrica do Metiltetrazolium (teste do MTT), e os resultados obtidos não mostraram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos experimentais e entre estes e os controles, já que a redução do metabolismo para os grupos G1, G2, G3 e G4 foi, respectivamente, de 0,82; 9,6; 4,4 e 0%. A análise da morfologia celular em microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostrou não haver diferenças entre os grupos experimentais e controles. Baseado nos resultados obtidos foi possível concluir que o tempo de presa e o de armazenagem do cimento MTA-Branco em líquido não interferem negativamente no metabolismo celular, caracterizando o insignificante efeito citotóxico do material.

**Palavras-chave:** *Materiais dentários; agregado de trióxido mineral; cimentos dentários; citotoxicidade.*

**Abstract:** The mineral trioxide aggregate - white-MTA (W-MTA, Angelus Ind. Com. Ltda, Br.) is a hard-setting cement widely used in endodontics. This dental material presents lower cost than some similar cements available in dentistry. Since the cytotoxicity of this dental material to the

pulp cells is unknown, the aim of this in vitro study was to evaluate the toxic effects of the W-MTA to an immortalized odontoblast cell line (MDPC-23). Round-shaped samples were prepared and immersed in culture medium (DMEM) 1 hour (non-set material) or 4 hours (set material) after hand-mixing. The samples remained in DMEM for 24 hours or 7 days, giving rise to the following experimental groups: G1: 1 hour set period/24hours immersion; G2: 4hours set period/24 hours immersion; G3: 1 hour set period/7-day immersion; and G4: 4 hours set period/7- day immersion. After 72 hours incubation, the complete DMEM that was in contact with the cells (30,000 cells/cm<sup>2</sup>) was replaced by the extracts obtained from the experimental W-MTA. In control groups (G5 and G6) fresh DMEM was used. The cell metabolic activity was evaluated by the Methyltetrazolium (MTT) assay which determines the mitochondrial respiration of the cells. In G1, G2, G3, and G4 the cell metabolism decreased by 0.82; 9.6; 4.4 and 0%, respectively. The statistical analysis showed no significant difference among the experimental and control groups. The cell morphology evaluated by scanning electron microscope (SEM) determined no difference among the experimental and control groups. Based on the experimental conditions, it is possible to conclude that the W-MTA presents non significant cytopathic effects to the MDPC-23 pulp cells. The immersion of set or non-set W-MTA round-shaped samples in wet environment does not influence the cytotoxicity of this hard-setting cement.

**Keywords:** *Dental materials; mineral trioxide aggregate; dental cements; cytotoxicity.*

## Introdução

Desde o desenvolvimento da primeira formulação do cimento MTA (Agregado de Trióxido Mineral), este material tem sido utilizado para variados procedimentos clínicos<sup>1</sup>. Sua composição é principalmente de óxidos minerais (silicato tricálcico, aluminato tricálcico, óxido tricálcico, óxido de silicato e óxido de bismuto) e consiste de um pó de partículas finas e hidrofílicas que, em presença de água, forma uma pasta que se solidifica em torno de 4 horas após sua manipulação<sup>2</sup>. Assim, quando em contato com o cimento, a umidade do tecido circundante age como ativador da reação química, justificando a utilização cada vez maior desse material<sup>3</sup>.

Quando introduzido no mercado, o objetivo principal do cimento MTA era selar as perfurações que podem ocorrer acidentalmente, na base da câmara coronária, quando da realização de um procedimento endodôntico ou da preparação do elemento dentário para cimentação de um pino intracanal. Todavia, esse cimento também tem sido utilizado como material obturador endodôntico, selador apical em apicetomias, material capeador para pulpotomias de dentes decíduos e permanentes jovens e capeamento pulpar direto<sup>4-8</sup>. Além de as variadas formulações do cimento MTA apresentarem excelentes propriedades físicas e mecânicas quando comparadas com outros cimentos indicados para a mesma finalidade<sup>9-11</sup>, elas possuem também importante propriedade antimicrobiana, inibindo a atividade de diversos microorganismos<sup>12,13</sup>.

Em trabalho recente, Felipe et al.<sup>14</sup> observaram que o cimento MTA apresentou comportamento favorável quando utilizado em dentes de cães com rizogênese incompleta. Os autores demonstraram que a aplicação do MTA, imediatamente após o preparo biomecânico do canal radicular, favoreceu

o estabelecimento de ligamento periodontal normal e na formação de osso e cimento, mesmo na presença de exsudato e contaminação, promovendo desinfecção do canal e estímulo para a formação de barreira apical de tecido duro. Por outro lado, quando em contato com a umidade, especialmente do tecido pulpar, o MTA pode se solubilizar e liberar componentes para o meio<sup>10,11</sup>, os quais podem apresentar efeitos tóxicos sobre as células pulpares desencadeando reação inflamatória pulpar persistente<sup>15-18</sup>. Outra limitação para a aplicação do cimento MTA atualmente disponível no mercado odontológico é o seu alto custo, o que tem reduzido sua aplicação clínica nos variados procedimentos operatórios para os quais esse material tem sido recomendado, inclusive para a terapia pulpar. Atualmente, um novo agregado de trióxido mineral está sendo produzido no mercado nacional, o MTA-Branco (ANGELUS Indústria de Produtos Odontológicos Ltda, Londrina - PR, Brasil), que apresenta custo inferior ao dos demais cimentos importados. Não foram encontrados na literatura estudos que avaliassem as propriedades biológicas desse material sobre células pulpares ou quando aplicado sobre polpas expostas. Assim, o propósito desta pesquisa foi avaliar o possível efeito citotóxico do agregado de trióxido mineral (MTA-Branco) em células odontoblastóides mantidas em cultura, bem como a influência dos tempos de presa e de armazenamento do material em meio líquido sobre essa citotoxicidade.

## Material e método

### *Manutenção das células MDPC-23 em cultura*

Células de linhagem odontoblastica MDPC-23<sup>19</sup> foram cultivadas em garrafas plásticas de 25 cm<sup>2</sup> (Costar Corp,

Cambridge - MA, USA), em meio de cultura completo Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM-SIGMA Chemical Co., St Louis - MO, USA) contendo 10% de soro fetal bovino (SFB-Cultilab, Campinas - SP, BR), 100 IU. mL<sup>-1</sup> e 100 µg.mL<sup>-1</sup>, respectivamente, de penicilina e estreptomicina e 2 mmol.L<sup>-1</sup> de glutamina (GIBCO, Grand Island - NY, USA), em uma atmosfera umedecida contendo 5% de CO<sub>2</sub>, na temperatura de 37 °C. Essas células foram subcultivadas a cada 3 dias até que se obtivesse o número de células suficiente para a realização do experimento (30.000 células/cm<sup>2</sup>) e, após serem incubadas por 72 horas, foram expostas aos extratos obtidos do cimento MTA-Branco.

#### Preparo dos corpos-de-prova de MTA-Branco

Neste estudo, 32 corpos-de-prova foram confeccionados com o MTA-Branco (ANGELUS Indústria de Produtos Odontológicos Ltda., Londrina - PR, Brasil) e, a seguir, divididos (n = 8) de acordo com o tempo de presa do material, de 1 hora ou 4 horas, e o período em que os espécimes foram mantidos em contato com o meio de cultura DMEM (24 horas ou 7 dias). A identificação e o número de espécimes de cada grupo estão apresentados na Tabela 1.

O material experimental foi manipulado em porções que originavam dois corpos-de-prova cada (0,1850 g de pó de MTA-Branco adicionados em 60 µL de água destilada esterilizada). Após espatulação do material, o cimento foi imediatamente inserido em seringas de insulina esterilizadas, previamente preparadas, obtendo-se corpos de prova com 4 mm de diâmetro e 2 mm de espessura. Após 60 minutos, 16 corpos-de-prova sem presa completa (G1 e G3) foram posicionados individualmente na base dos compartimentos (*wells*) de placas de acrílico de 24 *wells*. Para os grupos G2 e G4, os corpos-de-prova foram incubados por 4 horas para a presa completa, sendo, em seguida, posicionados individualmente na base dos *wells*. Após imersão dos 32 corpos-de-prova em 1 mL de DMEM puro, as placas de acrílico de 24 *wells* foram mantidas em estufa umidificada a 37 °C, com 5% de CO<sub>2</sub>, 95% de ar pelos períodos predetermi-

nados de 24 horas ou 7 dias. Nos grupos controle (G5 e G6), o DMEM puro foi submetido aos mesmos períodos de incubação (24 horas e 7 dias). Finalmente, após os períodos de armazenamento predeterminados, os extratos obtidos foram aplicados em 48 *wells* de duas placas de acrílico, onde células MDPC-23 haviam sido semeadas (30.000 células/cm<sup>2</sup>) e incubadas pelo tempo de 72 horas. As células em contato com os extratos experimentais e controle foram mantidas em incubadora por um tempo adicional de 120 minutos<sup>20</sup>.

#### Análise do metabolismo celular (teste de citotoxicidade - MTT assay)

O metabolismo das células odontoblastóides que mantiveram contato com os extratos do MTA-Branco (G1, G2, G3, e G4) foi avaliado por meio da análise colorimétrica do Metiltetrazolium (teste do MTT)<sup>21</sup>, a qual representa a taxa de respiração mitocondrial das células. Esse protocolo tem sido amplamente utilizado em pesquisas realizadas com culturas de células<sup>22,23</sup>. A viabilidade celular foi avaliada por espectrofotometria no Leitor Universal de ELISA (ELX 800 - Universal Microplate Reader- BIO -TEK Instruments, ICC), num comprimento de onda de 570 nm.

#### Análise Estatística

Os dados referentes ao metabolismo celular foram submetidos aos testes estatísticos não-paramétricos de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. O primeiro foi aplicado para comparar cada grupo individualmente nos períodos de análise, ou seja, 24 horas e 7 dias, enquanto o segundo foi utilizado para comparar os três grupos em cada um dos períodos. Todos os testes foram considerados ao nível de significância de 5%.

#### Análise do pH

Os valores de pH das soluções experimentais e controle foram avaliados com um phmetro digital (PG 2000, GEHAKA, São Paulo - SP). A leitura foi realizada inicialmente no meio DMEM puro, e em seguida, nas solu-

**Tabela 1.** Distribuição dos grupos experimentais e controle de acordo com o tempo de armazenagem dos corpos-de-prova no meio de cultura

Material	Tempo de armazenagem	Tempo de presa	Identificação dos grupos	Número de espécimes
MTA (ANGELUS Indústria de Produtos Odontológicos Ltda., Londrina, PR, Brasil).	24 horas	1 hora	G1	8
		4 horas	G2	8
	7 dias	1 hora	G3	8
		4 horas	G4	8
DMEM (SIGMA Chemical Co., St. Louis MO, USA).	24 horas	-	G5	8
	7 dias	-	G6	8

ções obtidas após a manutenção dos corpos-de-prova do MTA-Branco em DMEM puro.

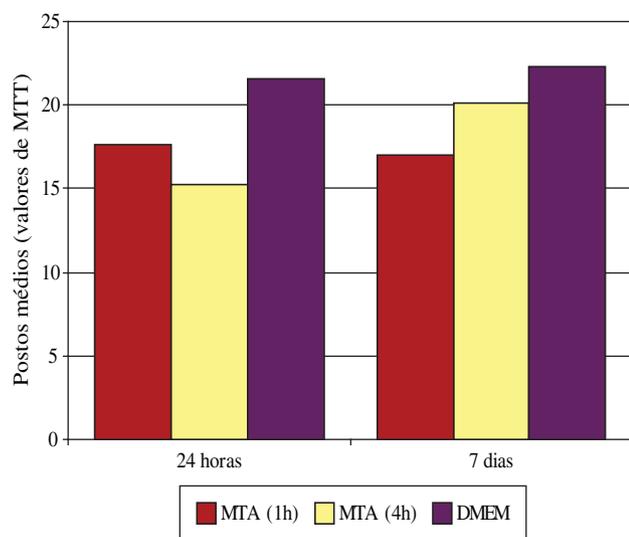
#### Análise da morfologia celular

A morfologia das células MDPC-23 foi avaliada no microscópio eletrônico de varredura (MEV, JEOL-JMS-T33A Scanning Microscope, JEOL – USA Inc., Peabody - MA, USA), utilizando dois espécimes representativos de cada grupo. As células em contato com os extratos experimentais ou com o meio de cultura (controle), após os 120 minutos de incubação, foram fixadas em solução de glutaraldeído 2,5% por 24 horas e pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1% por 60 minutos. Em seguida, foram desidratadas em soluções de etanol em concentrações crescentes e, finalmente, as células foram submetidas à secagem por meio do solvente de baixa tensão superficial 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazane (HMDS - ACROS Organics, New Jersey, USA) e mantidas em dissecador durante 12 horas.

## Resultado

#### Análise do metabolismo celular (teste do MTT)

Os valores numéricos do metabolismo celular após 120 minutos de contato das células MDPC-23 com os extratos experimentais e controle estão apresentados graficamente na Figura 1. A análise estatística demonstrou não



**Figura 1.** Representação gráfica do metabolismo das células MDPC-23 (postos médios) em contato com o MTA e o DMEM (meio de cultura), de acordo com o período de armazenamento no meio de cultura e o tempo de presa. Não existiu diferença significativa para o mesmo material nos dois períodos de investigação (Mann-Whitney,  $p > 0,05$ ) ou entre os materiais para o mesmo período (Kruskal-Wallis,  $p > 0,05$ ).

existir diferenças significantes para o mesmo material nos dois períodos de investigação (Mann-Whitney,  $p > 0,05$ ) ou entre os materiais para o mesmo período (Kruskal-Wallis,  $p > 0,05$ ). Independente dos tempos de presa do material e dos períodos de tempo de obtenção dos extratos aqui testados, o MTA-Branco praticamente não apresentou efeitos tóxicos sobre as células MDPC-23. Nos grupos G1, G2, G3 e G4, a redução do metabolismo celular causada pelo cimento experimental foi de 0,82; 9,6; 4,4 e 0% respectivamente. Os valores obtidos para os grupos controle (G5 e G6) foram considerados 100% do metabolismo celular, ou seja, ausência de inibição do metabolismo das células.

#### Análise do pH

Os valores de pH obtidos para os extratos de cada grupo experimental estão apresentados na Tabela 2.

#### Análise da morfologia celular

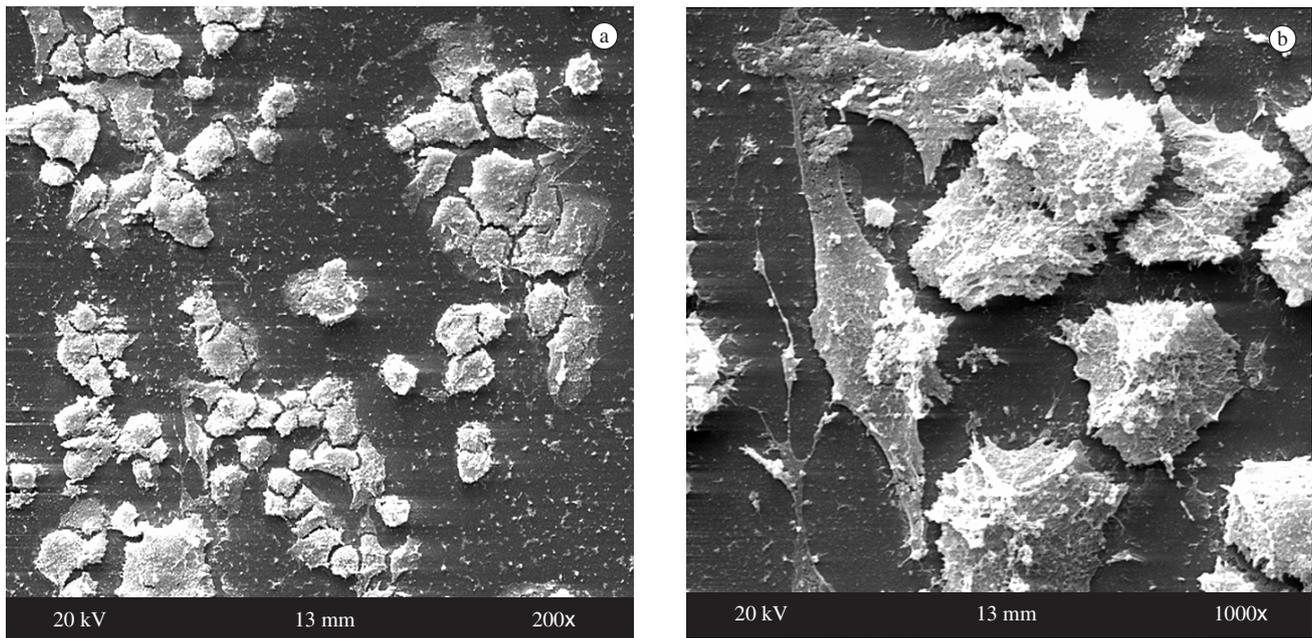
Em todos os grupos experimentais e controle, foi observado, no MEV, que uma grande quantidade de células MDPC-23 permaneceu aderida ao substrato de vidro organizada em nódulos. A morfologia da maioria das células era alongada e com finos prolongamentos citoplasmáticos, que pareciam promover a adesão das mesmas às lamínulas de vidro (Figuras 2, 3, 4).

## Discussão

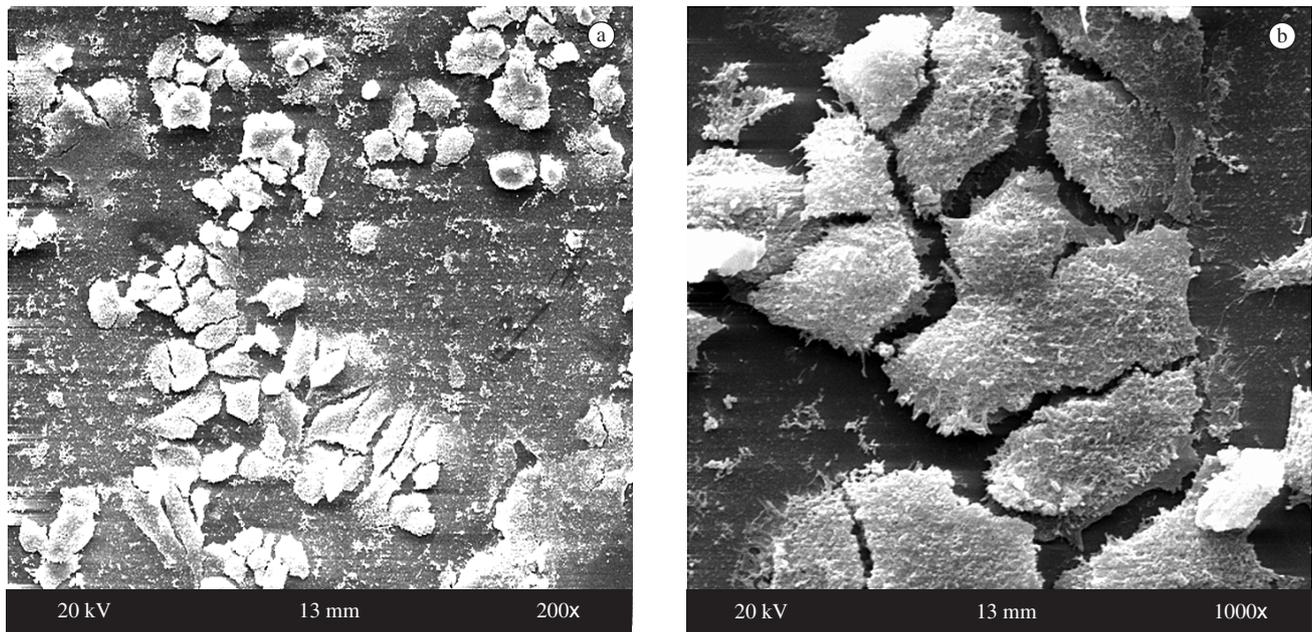
Entre as várias metodologias recomendadas para a avaliação da citotoxicidade de materiais odontológicos, os testes in vitro em cultura de células têm sido muito utilizados<sup>16,22,23</sup>. Assim, na presente pesquisa, um protocolo de pesquisa in vitro foi desenvolvido para avaliar os efeitos tóxicos do cimento MTA-Branco, variando a sua consistência e o tempo de permanência do material em ambiente úmido. Nesta pesquisa, células MDPC-23, que apresentam fenótipo de odontoblastos<sup>19</sup>, foram utilizadas, uma vez que são células típicas da polpa e as principais responsáveis pela síntese, secreção e deposição de matriz de dentina. De acordo com MacDougall et al.<sup>24</sup>, os odontoblastos parecem ser as células mais indicadas para os testes de citotoxicidade in vitro dos materiais dentários, e, por isso, células com o seu fenótipo têm sido amplamente utilizadas em pesquisas laboratoriais<sup>25-27</sup>.

**Tabela 2.** Valores de pH dos extratos experimentais e do meio de cultura DMEM puro

Período	Valores de pH MTA		DMEM
	1 hora presa	4 horas presa	
24 horas	8,98	8,90	8,85
7 dias	8,99	8,42	8,47



**Figura 2.** Grupo controle 24 horas (G5) – a) Células MDPC-23, organizadas em nódulos, aderidas ao substrato de vidro. MEV, 200x. b) Presença de células com longos e finos prolongamentos citoplasmáticos originados de sua membrana. MEV, 1000x.

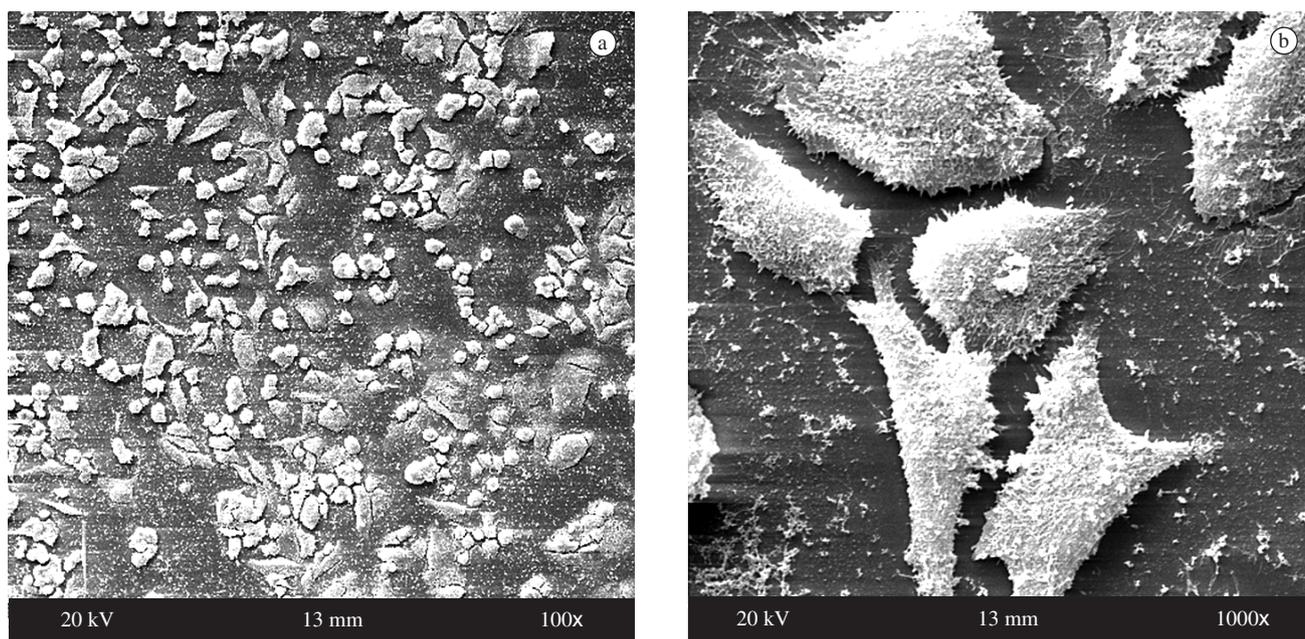


**Figura 3.** Grupo MTAB 1 hora/7 dias (G3) – Grupamentos de células MDPC-23, organizadas em nódulos. MEV, a) 200x; b) 1000x.

Sabe-se que com a aplicação clínica das diferentes formulações de MTA ocorre o contato direto do cimento com o tecido conjuntivo, principalmente com as células, os vasos sanguíneos e outros componentes do ligamento periodontal, tecido ósseo e pulpar, os que fazem com que, os conhecimentos sobre seus efeitos citotóxicos e propriedades biológicas sejam de fundamental importância. Nesse sentido,

pesquisas desenvolvidas nos últimos anos têm demonstrado que o MTA convencional apresenta limitado efeito citotóxico, determinando resultados favoráveis quando comparado com outros materiais considerados biocompatíveis usados para a mesma finalidade<sup>28,29</sup>.

Na presente pesquisa, o MTA-Branco, que representa uma nova formulação derivada do agregado de trióxido mineral



**Figura 4.** Grupo MTAB 4 horas/7 dias (G4). a) Presença de grande número de células ligeiramente alongadas e organizadas em nódulos densos. MEV, 100x; b) Detalhe da Figura 4a, na qual se pode observar a morfologia das células MDPC-23 que permaneceram aderidas ao substrato de vidro. MEV, 1000x.

convencional, foi avaliado pelo teste de citotoxicidade - o MTT- que determina a taxa de respiração mitocondrial das células viáveis. Esse material, em ambas as condições experimentais (com presa total ou não), praticamente não apresentou efeitos tóxicos significantes sobre as células odontoblastóides.

Convém salientar que recentemente foi demonstrado que fibroblastos do ligamento periodontal humano, quando em contato com um outro cimento MTA comercial sem presa completa recém-preparado (ProRoot MTA, Dentsply, Tulsa Dental Products, Tulsa, OK), apresentavam morfologia diferente daquela observada para o grupo controle negativo (meio de cultura DMEM suplementado) e o positivo (solução de metil-metacrilato na concentração de 2%)<sup>30</sup>. Para este grupo controle positivo, a superfície das células apresentava muitos vacúolos e algumas bolhas, características comuns de células injuriadas que estariam em processo de morte. Os fibroblastos colocados em contato com o cimento Pro-Root MTA que não havia tomado presa completa (recém-preparado) apresentavam morfologia variada, tendo poucas células permanecido aderidas à superfície do cimento<sup>30</sup>. Por outro lado, quando estes fibroblastos foram colocados em contato direto com o cimento Pro-Root MTA com presa completa, a morfologia celular era mais homogênea, semelhante àquela observada para o grupo controle negativo.

Como não existem relatos anteriores sobre a morfologia das células odontoblastóides em contato com as diferentes formulações de MTA, os dados apresentados nesta pesquisa são inéditos. Desta maneira, demonstrou-se, ao MEV, que,

para todos os grupos experimentais estudados, as células MDPC-23 exibiam perfil ligeiramente alongado e com finos prolongamentos citoplasmáticos originados de seu corpo celular semelhantes àqueles observados para o grupo controle negativo, no qual as células foram mantidas em contato com meio de cultura puro. Esses resultados, diferentes daqueles demonstrados por Balto<sup>30</sup>, determinaram que o tempo de presa não exerceu influência na toxicidade do material. Essa discordância entre este estudo e o trabalho de Balto<sup>30</sup> pode ter ocorrido devido às diferenças na sensibilidade das células utilizadas ou mesmo na composição dos cimentos avaliados. Também, pode-se sugerir que a diferença de composição do cimento MTA avaliado por Balto<sup>30</sup> do cimento MTA-Branco analisado na presente pesquisa pode ter determinado diferentes resultados com relação aos efeitos citotóxicos relacionados às condições de presa dos materiais. Em relação a esta última suposição, salienta-se que o MTA-Branco apresenta menor concentração de  $Fe_2O_3$  (0,15%) quando comparado ao Pro-Root MTA (2,5%).

Balto<sup>30</sup>, ainda sugeriu que a maior citotoxicidade do MTA recém-manipulado tenha ocorrido devido à maior liberação em meio aquoso de componentes tóxicos do cimento, os quais teriam afetado a morfologia das células e a sua adesão ao material. Apesar de os componentes químicos ou a sua quantidade liberada não terem sido aqui avaliados, a análise macroscópica dos extratos obtidos para cada grupo experimental e controle mostrou alta limpidez. Assim, o insignificante efeito tóxico do cimento MTA-Branco sem presa

completa (G1 e G3), como aqui observado, pode determinar um insignificante efeito irritante do material mesmo quando utilizado como agente capeador direto, uma vez que esse cimento é aplicado sobre a polpa imediatamente após sua manipulação, ou seja, com presa incompleta.

Um outro fator importante sobre a aplicação in vivo dos cimentos é que a liberação de alguns componentes dos materiais aplicados sobre o tecido conjuntivo pode resultar em benefícios para o processo de cura tecidual. Nesse sentido, em pesquisa recente, foi demonstrado que o óxido de cálcio presente na composição de variados cimentos MTA pode reagir com fluidos tissulares para formar o hidróxido de cálcio. Assim, Yaltirik et al.<sup>31</sup>, após implante do MTA ProRoot no tecido subcutâneo dorsal de ratos, observaram a presença de calcificação distrófica no tecido conjuntivo adjacente ao cimento, sugerindo o potencial de formação de tecido duro por esse material. Estes resultados são concordantes com os de outras pesquisas em barreiras mineralizadas se formaram após capeamento da polpa dentária com MTA<sup>32-35</sup>.

A intensa liberação de componentes tóxicos do material capeador pode resultar em profunda área de necrose pulpar, o que pode interferir negativamente na capacidade de reparo do tecido conjuntivo especializado quando de futuras injúrias. Fridland, Rosado<sup>10</sup>, ao determinarem a composição química do sal do MTA dissolvido na água, identificaram o íon cálcio como principal componente, responsável pelo pH altamente alcalino do MTA (pH 11,94-11,99). Porém, devido à característica límpida dos extratos obtidos do material experimental e ao seu reduzido efeito citotóxico, pode-se sugerir que o MTA-Branco apresenta, mesmo imediatamente após sua manipulação, baixa liberação desses componentes alcalinos. Essa sugestão está de acordo com os resultados de outra pesquisa in vitro, em que a superfície de corpos-de-prova preparados com MTA-Branco avaliada ao MEV apresentava-se homogênea mesmo após alguns dias de imersão em meio de cultura, sugerindo sua reduzida solubilidade em meio líquido (Lessa et al., 2006 - informação não publicada). Por isso, talvez a aplicação do MTA-Branco sobre polpas expostas possa causar limitados danos iniciais ao tecido, o que resultaria em delgada camada de necrose da polpa imediatamente abaixo do material capeador, permitindo ou mesmo participando diretamente do processo de reparo de feridas pulparem em período de tempo mais curto e sem perda expressiva do tecido local, favoreceria a manutenção da elevada capacidade de cura da polpa<sup>36</sup>. Todavia, sabe-se que o pH do material também participa do processo de necrose de parte da polpa abaixo do agente capeador. Em relação aos testes em cultura de células, a variação de pH do extrato obtido após contato do meio de cultura com os materiais experimentais pode resultar em intenso efeito citotóxico<sup>25</sup>. Na presente pesquisa, não houve diferença entre os valores de pH do controle e dos grupos experimentais. Esse fato parece confirmar a limitada liberação de componentes químicos alcalinos do cimento MTA-Branco

no meio de cultura, o que pode ter sido o principal responsável pela insignificante citotoxicidade do material.

Convém chamar a atenção sobre o fato de que a aplicação direta de materiais em cultura de células superestima os resultados que seriam esperados nas situações clínicas. Neste caso, os dados científicos obtidos de pesquisas in vitro não podem ser diretamente extrapolados para situações clínicas, uma vez que, antes da recomendação de um material odontológico para procedimentos clínicos em humanos, outros estudos in vitro, e principalmente in vivo, são necessários. Portanto, os excelentes resultados observados na presente pesquisa, caracterizados pela não-significante citotoxicidade do MTA-Branco sobre células odontoblastóides em cultura, sugerem o desenvolvimento de novas investigações, como exemplo a avaliação da resposta de polpas expostas capeadas com esse tipo de material odontológico.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Processos: 302575/2004-9 e 108086/2005-4) pelo apoio integral no desenvolvimento da presente pesquisa.

## Referências

1. Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. *J Endod.* 1993;19:541-4.
2. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod.* 1995;21:349-53.
3. Lopes HP, Estrela C, Siqueira Jr JF, Costa Filho AS. Tratamento conservador pulpar. In: Lopes HP, Siqueira Junior, JF. *Endodontia: biologia e técnica.* Rio de Janeiro: Medsi; 1999. p.223-44.
4. Torabinejad M, Pitt Ford TR, McKendry DJ, Abedi HR, Miller DA, Kariyawasan SP. Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root-end-filling in monkeys. *J Endod.* 1997; 23:225-228.
5. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 1999;25:97-205.
6. Eidelman E, Holan G, Fuks AB. Mineral trioxide aggregate vs. Formocresol in pulpotomized primary molars: a preliminary report. *Pediatr Dent.* 2001;23:15-8.
7. Levenstein H. Obturating teeth with wide open apices using mineral trioxide aggregate: a case report. *SADJ.* 2002;57:270-3.
8. Maroto M, Barberia E, Planells P, Vera V. Treatment of a non-vital immature incisor with a mineral trioxide aggregate (MTA). *Dent Traumatol.* 2003;19:165-9.
9. Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *J Endod.* 1993;19:591-5.

10. Fridland M, Rosado R. Mineral Trioxide Aggregate (MTA) - Solubility and porosity with different water-to-powder ratios. *J Endod.* 2003;29:814-7.
11. Fridland M; Rosado R. MTA solubility: a long term study. *J Endod.* 2005;31:376-9.
12. Sipert CR, Hussne RP, Nishiyama CK, Torres SA. In vitro antimicrobial activity of Fill Canal, Sealapex, Mineral Trioxide Aggregate, Portland cement and Endo Rez. *Int Endod J.* 2005;38:539-43.
13. Eldeniz AV, Hademli HH, Ataoglu H, Ostavik D. Antibacterial effect of selected root-end filling materials. *J Endod.* 2006;32:345-9.
14. Felipe WT, Felipe MCS, Rocha MJC. The effect of mineral trioxide aggregate on the apexification and periapical healing of teeth with incomplete root formation. *Int Endod J.* 2006;39:2-9.
15. Keiser K, Johnson CC, Tripton DA. Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. *J Endod.* 2000;26:288-91.
16. De Deus G, Ximenes R, Gurgel-Filho ED, Plotkowski MC, Coutinho Filho T. Cytotoxicity of MTA and Portland cement on human ECV 304 endothelial cells. *Int Endod J.* 2005;38:604-9.
17. Moghaddame-Jafari S, Mantellini MG, Botero TM, McDonald NJ, Nör JE. Effect of ProoRoot MTA on pulp cell apoptosis and proliferation in vitro. *J Endod.* 2005;31:387-91.
18. Ribeiro DA, Matsumoto MA, Duarte MAM, Marques MEA, Salvadori DMF. In vitro biocompatibility tests of two commercial types of mineral trioxide aggregate. *Braz Oral Res.* 2005;19:183-7.
19. Hanks CT, Sun ZL, Fang DN, Edwards CA, Wataha JC, Ritchie HH, et al. Cloned 3T6 cell line from CD-1 mouse fetal molar dental papillae. *Connect Tissue Res.* 1998;37:233-49.
20. Mendonça AMM, Souza PPC, Hebling J, de Souza Costa CA. Cytotoxic effects of hard-setting cements applied on the odontoblast cell line MDPC-23. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006 (in press).
21. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods.* 1983;65:55-63.
22. Takita T, Hayashi M, Takeichi O, Ogiso B, Suzuki N, Otsuka K, et al. Effect of mineral trioxide aggregate on proliferation of cultured human dental pulp cells. *Int Endod J.* 2006;39:415-22.
23. Koh ET, McDonald F, Pitt Ford TR, Torabinejad M. Cellular response to Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod.* 1998;24:543-7.
24. MacDougall M, Selden JK, Nydegger JR, Carnes DL. Immortalized odontoblast cell line MO6-G3 application for in vitro biocompatibility testing. *Am J Dent.* 1998 (11 Spec No 10):S11-6.
25. Costa CAS; Vaerten MA, Edwards CA, Hanks CT. Cytotoxic effects of current adhesive systems on immortalized odontoblast cell line MDPC-23. *Dent Mater.* 1999;15:434-41.
26. Aranha AMF, Giro EMA, Souza PPC, Hebling J, Costa CAS. Effect of curing regime on the cytotoxicity of resin-modified glass ionomer lining cements applied to an odontoblast cell-line. *Dent Mater.* 2006;22:864-9.
27. Souza PPC, Aranha AMF, Hebling H, Giro EMA, Costa CAS. In vitro cytotoxicity na in vivo biocompatibility of contemporary resin-modified glass-ionomer cements. *Dent Mater.* 2006;22:838-44.
28. Costa CAS, Bacalhau JT, Hebling J. Estudo preliminar da biocompatibilidade de diferentes cimentos utilizados na terapia pulpar. *RPG: Rev Pós-Grad.* 2003;10:25-36.
29. Bonson S, Jeansonne BG, Lallier TE. Root-end filling materials alter fibroblast differentiation. *J Dent Res.* 2004;83:408-13.
30. Balto HA. Attachment and morphological behavior of human periodontal ligament fibroblasts to mineral trioxide aggregate: a scanning electron microscope study. *J Endod.* 2004;30:25-9.
31. Yaltirik M, Ozbas H, Bilgic B, Issever H. Reactions of connective tissue to mineral trioxide aggregate and amalgam. *J Endod.* 2004;30:95-9.
32. Tziafas D, Pantelidou O, Alvanou A, Belibasakis G, Papadimitriou S. The dentinogenic effect of mineral trioxide aggregate (MTA) in short-term capping experiments. *Int Endod J.* 2002;35:245-54.
33. Pavirokh M, Agary S, Eghbal MJ, Sowe S, Eslami B, Eskandarizade A, et al. A comparative study of white and grey mineral trioxide aggregate as pulp capping agents in dog's teeth. *Dent Traumatol.* 2005;21:150-4.
34. Asgary S, Pavirokh M, Eghbal MJ, Ghodousi J, Eskandarizade A. SEM evaluation of neodentinal bridging after direct pulp protection with mineral trioxide aggregate. *Aust Endod J.* 2006;32:26-30.
35. Chacko V, Kurikose S. Human pulpal response to mineral trioxide aggregate (MTA): a histologic study. *J Clin Pediatr Dent.* 2006;30:203-9.
36. Murray PE, Lumley PJ, Smith AJ, Ross HF. The influence of sample dimensions on hydroxyl ion release from calcium hydroxide products. *Endod Dent Traumatol.* 2000;16:251-7.