

Avaliação do efeito carcinogênico do cimento biocerâmico endodôntico em *Drosophila melanogaster*

Evaluation of the carcinogenic effect of endodontic bioceramic cement on *Drosophila melanogaster*

Evaluación del efecto cancerígeno del cemento biocerámico endodóntico sobre *Drosophila melanogaster*

Recebido: 18/10/2022 | Revisado: 25/10/2022 | Aceitado: 25/10/2022 | Publicado: 30/10/2022

Gabriela Alves Rodrigues

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6893-2803>
Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil
E-mail: gabrielaar@unipam.edu.br

Ana Caroline Soares Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8963-4223>
Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil
E-mail: anacso@unipam.edu.br

Eduarda Mello de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6194-3120>
Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil
E-mail: eduardamello@unipam.edu.br

Isabela Alves Santana

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3131-9167>
Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil
E-mail: isabelaas@unipam.edu.br

Leonardo Biscaro Pereira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9790-9082>
Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil
E-mail: leonardobiscaro@unipam.edu.br

Priscila Capelari Orsolin

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7366-7437>
Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil
E-mail: priscilaco@unipam.edu.br

Daniella Cristina Borges

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5424-5367>
Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil
E-mail: dcborges@unipam.edu.br

Resumo

A Endodontia encontra-se em constante evolução, desenvolvendo novos materiais com frequência. Além de proporcionarem um selamento ápico-coronal adequado, os cimentos obturadores devem apresentar características físicas, químicas e biológicas próximas ao ideal, sendo as características biológicas determinantes para a segurança do cimento a ser utilizado. As características de biocompatibilidade são tema de diversos estudos na literatura, no entanto, são escassos os trabalhos que avaliam a carcinogenicidade destes materiais. Assim, torna-se necessário que se avalie este aspecto uma vez que, quando em contato com o canal radicular, o cimento atinge estruturas adjacentes do elemento dentário. Esse trabalho teve como objetivo avaliar o potencial carcinogênico do cimento biocerâmico Bio-C Sealer utilizando como modelo experimental o teste de detecção de tumores epiteliais em *Drosophila melanogaster*. Para isto utilizou-se a doxorubicina como controle positivo e água ultrapura como controle negativo. As moscas foram expostas a 4 diferentes concentrações do cimento: 1:50; 1:100; 1:200 e 1:400 e os resultados da contagem frequência de tumores foram comparados aos valores dos controles positivo e negativo. Houve aumento na frequência de tumores em todas as concentrações em relação ao controle negativo; além disso, o teste de regressão mostrou que a concentração 1:50 aumentou a frequência de indivíduos com tumores, sendo estatisticamente semelhante ao grupo controle positivo. Os resultados obtidos permitem concluir que o cimento endodôntico Bio-C Sealer apresentou um aumento na taxa de frequência tumoral com comportamento dose-dependente.

Palavras-chave: Endodontia; Testes de carcinogenicidade.

Abstract

Endodontics is constantly evolving, developing new materials frequently. In addition to providing an adequate apico-coronal sealing, the filling cements must present close to ideal physical, chemical and biological characteristics, with biological characteristics determining the safety of the cement to be used. The biocompatibility characteristics are the

subject of several studies in the literature, however, there are few studies that evaluate the carcinogenicity of these materials. Thus, it is necessary to evaluate this aspect since, when in contact with the root canal, the cement reaches adjacent structures of the dental element. This work aimed to evaluate the carcinogenic potential of the bioceramic cement Bio-C Sealer using as an experimental model the test for detection of epithelial tumors in *Drosophila melanogaster*. For this, doxorubicin was used as a positive control and ultrapure water as a negative control. The flies were exposed to 4 different cement concentrations: 1:50; 1:100; 1:200 and 1:400 and tumor frequency count results were compared to positive and negative control values. There was an increase in the frequency of tumors at all concentrations in relation to the negative control; in addition, the regression test showed that the 1:50 concentration increased the frequency of individuals with tumors, being statistically similar to the positive control group. The results obtained allow us to conclude that the endodontic cement Bio-C Sealer presented an increase in the tumor frequency rate with dose-dependent behavior.

Keywords: Endodontics; Carcinogenicity tests.

Resumen

La endodoncia está en constante evolución, desarrollando nuevos materiales con frecuencia. Además de proporcionar un sellado apico-coronal adecuado, los cementos de relleno deben presentar características físicas, químicas y biológicas cercanas a las ideales, con características biológicas que determinen la seguridad del cemento a utilizar. Las características de biocompatibilidad son objeto de varios estudios en la literatura, sin embargo, existen pocos estudios que evalúen la carcinogenicidad de estos materiales. Por lo tanto, es necesario evaluar este aspecto ya que, al entrar en contacto con el conducto radicular, el cemento llega a las estructuras adyacentes del elemento dentario. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el potencial cancerígeno del cemento biocerámico Bio-C sellador utilizando como modelo experimental la prueba para detección de tumores epiteliales en *Drosophila melanogaster*. Para ello se utilizó doxorubicina como control positivo y agua ultrapura como control negativo. Las moscas fueron expuestas a 4 concentraciones de cemento diferentes: 1:50; 1:100; 1:200 y 1:400 y los resultados del recuento de frecuencia de tumores se compararon con los valores de control positivo y negativo. Hubo un aumento en la frecuencia de tumores en todas las concentraciones en relación al control negativo; además, la prueba de regresión mostró que la concentración 1:50 incrementó la frecuencia de individuos con tumores, siendo estadísticamente similar al grupo control positivo. Los resultados obtenidos permiten concluir que el cemento endodóntico Bio-C Sellador presentó un aumento en el índice de frecuencia tumoral con un comportamiento dosis dependiente.

Palabras clave: Endodoncia; Pruebas de carcinogenicidad.

1. Introdução

O tratamento endodôntico é composto por uma sequência de procedimentos que tem como finalidade eliminar qualquer foco de infecção presente no conduto radicular. Um dos seus principais objetivos é o preenchimento completo do canal radicular utilizando-se materiais com propriedades adequadas para alcançar um selamento ápico-coronal apropriado e impedir a multiplicação de novos microrganismos (Silva et al., 2013; Kaur et al., 2015; Fonseca et al., 2019).

O fechamento completo do canal radicular depende de uma correta técnica obturadora, na qual há o selamento apical, lateral e coronário, impedindo a micro infiltração e, conseqüentemente, a penetração de substrato para que os microrganismos se multipliquem e recolonizem o sistema de canais radiculares (Sakko et al., 2016). Dessa forma, a obturação permite que ocorra a reparação e estimula um processo de biomineralização, permitindo o reparo da região periapical (Bueno et al., 2016; Sakko et al., 2016).

O cimento endodôntico é fundamental para se obter um correto selamento e sucesso da terapia endodôntica (Silva et al., 2013; Fonseca et al., 2019). Este material deve preencher as lacunas existentes entre os cones de guta-percha e as paredes do canal, formando uma barreira hermética (Kaur et al., 2015). Além disso, esses materiais possuem a capacidade de modulação da resposta inflamatória, resultando em regeneração da região periapical (Jeanneau et al., 2020).

A Endodontia se encontra em constante evolução, procurando melhorar a técnicas e desenvolver novos materiais com a finalidade de aumentar, cada vez mais, a previsibilidade dos tratamentos (Raghavendra et al., 2017). E, para isto, busca-se materiais que além de proporcionarem um selamento ápico-coronal adequado, possuam características físicas, químicas e biológicas próximas ao ideal (Silva et al., 2013). Diferentes materiais têm sido desenvolvidos juntamente a novas técnicas de obturação para se conseguir alcançar um selamento hermético adequado dos canais após o tratamento endodôntico, contudo, até à data, ainda não foi descoberto nenhum material que pudesse ser considerado ideal (Silva et al., 2013).

Atualmente, existem vários tipos de cimentos disponíveis no mercado com diferentes propriedades e composições. Dentre eles, os cimentos biocerâmicos surgiram apresentando propriedades significativas, como biocompatibilidade, adesão a dentina e menor toxicidade. Em geral, a composição dos cimentos biocerâmicos contém silicato de cálcio, hidróxido de cálcio, fosfato de cálcio e óxido de zircônio (Kaur et al., 2015; Colombo et al., 2018). Apesar das vantagens dos cimentos biocerâmicos, o uso desses materiais ainda é restrito, devido a pequena diversidade de produtos disponíveis no mercado e ao custo elevado. Uma das propriedades que se destacam nesse cimento é a biocompatibilidade. Um material é considerado biocompatível quando entra em contato com o tecido e não desencadeia uma reação adversa, como toxicidade, irritação, inflamação, alergia ou carcinogenicidade.

Os cimentos biocerâmicos, por serem considerados contemporâneos, apresentam pouca diversidade na literatura dissertando acerca de sua segurança associada com a existência de um possível efeito carcinogênico (Martins et al., 2017). A genotoxicidade é uma questão a ser avaliada já que, os agentes em questão entram em contato com estruturas biológicas, não sendo interessante que causem algum tipo de dano no DNA. O DNA, quando danificado, causa um desatrelamento durante a replicação levando a algum tipo de mutação que pode ser em uma única, poucas bases ou no cromossomo por completo (Almeida et al., 2005).

Assim, ressalta-se a importância de se realizar um experimento bem direcionado, visto que, um possível potencial carcinogênico seria considerado danoso já que o cimento, quando em contato com o canal radicular, atinge estruturas adjacentes do elemento dentário podendo trazer algum prejuízo futuramente. Posto isto, a escolha do cimento deve ser fundamentada em alguns critérios e propriedades, sendo considerado os aspectos a respeito de uma possível toxicidade ou efeito carcinogênico.

As entidades encarregadas por testes e criação de normas ISO (International Organization for Standardization) e ADA (American Dental Association) são responsáveis pelas pesquisas e estudos com objetivos científicos e por testes físico-químicos de produtos odontológicos, onde se encaixam os cimentos utilizados no tratamento endodôntico (Marín-bauza et al., 2012; Torres et al., 2019).

Uma propriedade importante e que deve ser muito bem avaliada é a biocompatibilidade, que pode ser definida como aquela que possui característica inócua, ou seja, não causa nenhum efeito e nem influencia no sistema imunológico quando em contato com os tecidos vitais (Washio et al., 2019).

À vista disso, os cimentos endodônticos quando utilizados na etapa de obturação, estão em íntimo contato com o órgão dental e as estruturas adjacentes a ele, principalmente em casos de extravasamento do material pelo ápice dental, não sendo interessante que cause algum efeito adverso (Silva et al., 2013; Moura et al., 2014; Kaur et al., 2015). Além disso, podem acarretar algum tipo de irritação tecidual, inflamação ou dor associado a um atraso no processo de cicatrização (Moura et al., 2014). Ademais, devem apresentar baixo potencial de mutagenicidade e toxicidade.

Os cimentos biocerâmicos são produzidos em laboratório, podendo incluir em sua composição alumina, zircônia, vidro bioativo, cerâmica, hidroxiapatita e fosfato de cálcio. Segundo seus fabricantes, os cimentos biocerâmicos apresentam atividade antibacteriana, pH alcalino, biocompatibilidade e radiopacidade (Candeiro et al., 2012). São considerados eficazes no tratamento endodôntico, sendo que sua ascendência está diretamente ligada com o aumento da utilização da tecnologia biocerâmica na área odontológica (Jafari & Jafari, 2017). Assim podem ter várias aplicações clínicas como proteção pulpar de dentes decíduos e permanentes, retro-obturações, reparação de perfurações de raízes e pode ainda ser usado para obturações apicais quando o ápice dentário não está totalmente formado (Donnermeyer et al., 2019).

Por sua composição ser a base de silicato de cálcio, propiciam um selamento adequado e impedem a sobrevivência de microrganismos. O seu pH elevado confere ao material uma ação antimicrobiana e estimula o processo de reparo de tecidos mineralizados (Martins et al., 2017). Estes cimentos induzem a formação de hidroxiapatita semelhante à orgânica, sendo capaz

de formar uma resposta regenerativa no corpo humano. Quando em contato com a estrutura óssea, a hidroxiapatita mineral tem um efeito osteocondutivo, que leva à formação óssea na interface (Ghabraei et al., 2017). Nos estudos de Al-Haddad e Aziz (2016) foi demonstrado que a biocompatibilidade dos cimentos biocerâmicos é devida a presença de fosfato de cálcio em sua composição, já que ele é o principal componente inorgânico de tecidos duros.

Em relação a toxicidade do material, é possível encontrar na literatura que possuem uma toxicidade moderada no momento do preparo e que, com o passar do tempo, sua toxicidade diminui (Zoufan et al., 2011).

Desta forma, sabendo-se da importância do cimento endodôntico para garantir o sucesso do tratamento, e que, para que possamos indicar os cimentos biocerâmicos de forma segura, faz-se necessário que saibamos todos os efeitos biológicos que o mesmo pode gerar, o presente trabalho buscou avaliar o potencial carcinogênico do cimento biocerâmico Bio-C Sealer utilizando linhagens de *Drosophila melanogaster* como modelo experimental.

2. Metodologia

Trata-se de uma pesquisa laboratorial, de modalidade experimental, com abordagem quantitativa, finalidade aplicada e objetivo descritivo exploratório (Estrela, 2018). A pesquisa foi realizada no Laboratório de Citogenética e Mutagenese do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, onde a substância testada foi o cimento endodôntico biocerâmico a base de dissilicato e trissilicato de cálcio nanoparticulado, em *Drosophila melanogaster*, por meio do teste de detecção de tumores epiteliais (ETT).

Os cimentos biocerâmicos de alumina, zircônia, hidroxiapatita, fosfato de cálcio, silicato de cálcio e cerâmicos de vidro são comumente utilizados na área da saúde. Quando um material é composto de estrutura biocerâmica passa a ser chamado de bioagregado. Estes materiais são produzidos em laboratório e possuem características que os tornam úteis na endodontia como: fácil manipulação estabilidade dimensional, pH elevado e em razão disto grande poder antimicrobiano, têm boa capacidade de escoamento (fluidez) e selamento, são considerados biocompatíveis e bioativos. A marca comercial que foi testada neste trabalho foi o Bio-C Sealer Angelus® Londrina- PR, Brasil.

O agente de controle positivo utilizado foi a Doxorubicina (DXR), um quimioterápico que gera radicais livres como subproduto (Costa, 2005). Esses radicais livres agem diretamente no núcleo das células dificultando a divisão celular (Keizer et al., 1990); a DXR se difunde no núcleo e intercala no DNA aumentando um estresse de torção, afetando a integridade do DNA. Age na inibição da topoisomerase II, causando um rompimento das fitas, alterando assim a topologia do DNA. Além disso, ela pode gerar um aumento na renovação do nucleossomo, podendo resultar em morte celular (Yang et al., 2014). Para o procedimento experimental foi utilizado o cloridrato de doxorubicina vendido comercialmente com o nome de Fauldoxo® (F: 09/21; V: 09/23; L: 21100359), frasco-ampola, comercializado pelo laboratório Libbs. Experimentalmente, a DXR foi utilizada na concentração de 0,4 Mm, concentração reconhecidamente carcinogênica em *D. melanogaster*.

O controle negativo usado como referência para realização dos testes foi a água de osmose reversa.

2.1 Teste para Detecção de tumores epiteliais em *Drosophila melanogaster*

O teste genético utilizado na pesquisa foi o Epithelial Tumor Test (ETT), que avalia alterações genéticas induzidas em *D. melanogaster*, por meio do gene *wts* (Nepomuceno, 2015). Para realização desse teste serão utilizadas 2 linhagens de *D. melanogaster*, sendo elas: *wts* e *mwh*, que são portadores dos genes *warts* e *multiple wing hairs*, respectivamente. A linhagem *wts* foi fornecida pelo Bloomington Drosophila Stock Center, da Universidade de Indiana nos Estados Unidos (USA), registrado sob o número: Bloomington/7052 e a linhagem *mwh/mwh* foi fornecida pelo Dr. Ulrich Graf (Physiology and Animal Husbandry, Institute of Animal Science, ETH Zurich, Schwerzenbach, Switzerland).

Os estoques dessas linhagens de moscas são cultivados e mantidos no Laboratório de Citogenética e Mutagenese do

Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, onde são mantidas em frascos de ¼ litro composto por 820 mL de água, 25 g de fermento (*Saccharomyces cerevisiae*), 11 g de ágar, 156 g de banana e um grama de nipagin. São conservadas dentro de uma incubadora em uma temperatura de 25°C e uma umidade de 60%.

Para realização do procedimento experimental foi realizada, inicialmente, a separação das *Drosophilas* fêmeas e machos. Em três dias consecutivos de coletas (em intervalos de duas horas), onde foram separadas fêmeas *wts* e machos *mwh*. Esse processo é feito com o auxílio do éter, que permite que as moscas adormeçam, sendo possível a separação com base no dimorfismo sexual. Após a separação, as fêmeas e machos coletados foram colocados em meio próprio para acasalamento. Depois do acasalamento, essas moscas foram transferidas para um meio de postura (com base de fermento fresco), para a formação das larvas. A postura aconteceu por um período de aproximadamente 8 horas, onde as moscas deixaram seus ovos que, posteriormente, foram transformados em larvas. Após 72 horas, as larvas resultantes do cruzamento anteriormente descrito foram coletadas com auxílio de uma peneira de malha fina e transferidas para frascos contendo 1,5 g de purê de batatas e 5 mL da solução obtida por meio da diluição do cimento, em quatro diferentes concentrações, sendo elas: 1:50, 1:100, 1:200 e 1:400. O controle positivo utilizado foi a Doxorubicina (DXR) e o controle negativo, água ultrapura (de osmose reversa).

Após metamorfose das larvas, as moscas foram coletadas e armazenadas em frascos contendo etanol 70%. Posteriormente, elas foram colocadas em placas escavadas contendo glicerina para a sua avaliação. Antes da disso, foi feita a separação quanto aos fenótipos, de acordo com o seguinte critério: apenas moscas portadoras de pelos finos e longos apresentam o gene *wts* e, por isso, apenas essas moscas foram analisadas. Moscas com o fenótipo de pelos curtos e grossos foram descartadas. Para análise foram utilizadas lupas estereoscópicas e pinças entomológicas.

Os dados obtidos foram tabulados em uma planilha onde estão indicados o número de tumores encontrados em cada parte do corpo da mosca (regiões do olho, cabeça, asas, corpo, pernas, halteres) e, por fim, o total de tumores em cada uma delas. Isso foi feito para todas as concentrações e diluições, além dos grupos controle (positivo e negativo).

2.2 Análise estatística

Com a finalidade de analisar as diferenças estatísticas entre as frequências de tumores das concentrações testadas de cimento biocerâmico e o controle negativo foi utilizado o teste U, não paramétrico, de Mann-Whitney (com nível de significância de 5%).

As análises de distribuição, de tabelas cruzadas de associação de contingência (χ^2 de Pearson) e o modelo linear generalizado foram realizadas no software IBM SPSS v25.0. Para a razão de taxa de incidências, foi utilizado o modelo linear generalizado com distribuição de Poisson inflado em zeros com link logit. Neste caso, os grupos são comparados com o controle positivo.

3. Resultados e Discussão

Os testes de biocompatibilidade têm a finalidade de avaliar a resposta tecidual frente aos materiais com relação ao seu potencial inflamatório, mostrando se as células vão desencadear alguma reação inflamatória ou se apresentam algum grau de citotoxicidade, fato que levaria a morte de células do tecido. No entanto, estes mesmos testes não tem a capacidade de avaliar alterações na cadeia de DNA, ou de mutagênese, ocasionando assim efeitos carcinogênicos. De forma ideal, um material deve incluir além da biocompatibilidade, características de citotoxicidade e genotoxicidade.

Barcelos Só et al. (2022) avaliaram, por meio de um ensaio de viabilidade celular, a citotoxicidade e genotoxicidade de cimentos à base de silicato de cálcio, como o Sealer Plus BC que, por ser um material biocerâmico, apresenta composição semelhante ao Bio-C. Os resultados mostraram um baixo potencial genotóxico atribuído a esse cimento.

Em um estudo feito por Malta et al. (2022), o qual utilizou um modelo de animal alternativo (*Artemia salina*), para comparar a toxicidade de três cimentos: Bio-C Sealer, BC Sealer e AH Plus, não foi verificada diferença significativa de toxicidade entre o Bio-C e o BC Sealer, além de mostrar que estes foram menos tóxicos do que AH Plus. Além disso, os autores evidenciaram que a composição química dos cimentos biocerâmicos pode ser responsável por sua boa biocompatibilidade e menor toxicidade, sugerindo que cimentos endodônticos à base de silicato de cálcio são menos citotóxicos que cimentos à base de resina epóxi.

López-Garcia et al. (2019) realizaram um estudo comparativo de citocompatibilidade do Bio-C Sealer e BC Sealer. Tais cimentos demonstraram adequada citocompatibilidade em questão de viabilidade celular, migração, morfologia e fixação celular e capacidade de mineralização, quando comparados ao AH Plus. Foi mostrado também que o Bio-C Sealer e o BC Sealer são biocompatíveis em diferentes diluições.

Diferentemente dos três estudos citados, Klein-Junior et al. (2021) relataram que cimentos à base de silicato de cálcio tiveram a capacidade de reduzir a viabilidade celular, mas que o Bio-C Sealer apresentou citotoxicidade moderada se assemelhando ao mineral trióxido agregado (MTA).

Em nosso estudo, buscamos avaliar o potencial carcinogênico do Bio-C Sealer utilizando como metodologia o teste genético "Epithelial Tumor Test" (ETT) em *D. melanogaster*. Neste modelo experimental a droga doxorrubicina foi utilizada como controle positivo para indução de tumores, por ter seu potencial carcinogênico já comprovado neste modelo animal (Vasconcelos, 2016). Tal efeito foi comprovado nos resultados do presente estudo, visto que, observou-se frequência de 0,53 tumor/mosca nos indivíduos tratados com DXR, valor estatisticamente significativo quando comparado ao controle negativo ($p < 0,05$).

Para verificar se as diluições apresentavam efeito tóxico sobre as drosófilas, foram colocadas um total de 50 larvas para se desenvolverem em cada concentração. Na diluição 1:400, foi observado uma sobrevivência de 36% das larvas totais. Na diluição 1:200, houve uma sobrevivência de 32%. Na diluição 1:100, 30%. E, por fim, na diluição 1:50, apenas 16% das larvas totais sobreviveram. Foi observado então, que, conforme era diminuído a quantidade de diluição, mais tóxico o produto ficava diminuindo assim, a taxa de sobrevivência dos indivíduos, fato que comprovou que a toxicidade do cimento foi dose-dependente.

No que se refere aos resultados de nossa pesquisa de análise carcinogênica do cimento biocerâmico, os resultados foram primeiramente comparados com o controle negativo (água de osmose reversa). As análises demonstram que o material foi carcinogênico em todas as proporções/concentrações testadas, quando comparado com a frequência tumoral encontrada no controle negativo ($p < 0,05$) (Tabela 1).

Tabela 1 - Frequências de clones de tumores observados em *D. melanogaster*, heterozigotas para o gene supressor de tumor *wts*, tratadas com diferentes concentrações de cimento biocerâmico e controles.

Tratamentos	Número de Tumores Analisados							Total	Frequência
	Nº de Moscas	Olho	Cabeça	Asa	Corpo	Perna	Halter		
Água ultrapura	211	0	0	0	0	0	0	0	0
DXR (0,4 Mm)	169	17	24	17	24	7	1	90	0,53*
C. Biocerâmico 1:50	192	10	17	12	19	19	2	79	0,41*
C. Biocerâmico 1:100	185	7	16	9	13	7	0	52	0,28*
C. Biocerâmico 1:200	134	5	6	6	9	4	0	30	0,22*
C. Biocerâmico 1:400	129	2	2	3	2	2	0	11	0,08*

Diagnóstico estatístico de acordo com o teste de Mann-Whitney. Nível de significância $p \leq 0,05^*$. Valor considerado diferente do controle negativo ($p < 0,05$).

Fonte: Autores (2022).

A Tabela 1 apresenta o número total de tumores observados em cada um dos segmentos corporais dos indivíduos tratados com os controles (positivo e negativo) e as diferentes concentrações de cimentos, bem como as frequências tumorais em cada concentração. Nas proporções/concentrações de 1:50, 1:100, 1:200, e 1:400 as frequências tumorais observadas foram, respectivamente, 0,41, 0,28, 0,22 e 0,08 tumor/mosca, sendo todas estatisticamente superiores à frequência do controle negativo. Tais resultados revelam que o cimento biocerâmico foi carcinogênico, em *D. melanogaster*, nessas concentrações. Os resultados apontam ainda que o efeito observado foi dose-dependente, ou seja, quanto maior a concentração de cimento biocerâmico utilizada, maior a frequência de tumores observada.

Quando fazemos a análise da frequência tumoral (onde um indivíduo pode apresentar mais de um tumor) comparando-a com o controle positivo, utilizamos o modelo de regressão (Tabela 2). Nesta análise foi possível verificar que o grupo 1:50 não apresentou diferença significativa quando comparado com à DXR, fato que reforça o potencial carcinogênico do cimento biocerâmico nesta concentração. A diluição 1:400, embora tenha demonstrado diferença significativa em relação ao controle negativo, não diferiu significativamente do controle positivo.

Tabela 2 - Análise da frequência tumoral comparando-a com o controle positivo: modelo de regressão.

Variável	Estimativa	Erro padrão	Valor z	p-valor
Intercepto	-0,585	0,210	-2,788	0,005
Grupos				
DXR	1 (ref)			
BIO 1:50	0,329	0,285	1,151	0,250
BIO 1:100	-0,684	0,251	-2,721	0,007
BIO 1:200	-0,912	0,278	-3,278	0,001
BIO 1:400	-1,877	0,368	-5,102	<0,005

Fonte: Autores (2022).

No contexto geral da amostra, a doxorrubicina (controle positivo) aumenta a frequência de indivíduos com tumores, enquanto o controle negativo possui uma frequência de 0% de indivíduos acometidos. De maneira semelhante à doxorrubicina, a diluição 1:50 aumentou a frequência de indivíduos com tumores, também com aumento da taxa de incidência tumoral (média de tumores por indivíduo). Apesar das concentrações 1:100 e 1:200 terem aumentado a frequência de indivíduos com tumores,

ficando em um meio termo entre os controles positivo e negativo, a taxa de incidência de tumores foi menor que da doxorubicina. Por fim, a diluição 1:400, dentre as quatro diluições testadas, se mostrou mais segura, com uma taxa de incidência menor que da doxorubicina.

Apesar do resultado deste presente estudo, é importante ressaltar que os mecanismos exatos pelos quais o cimento biocerâmico, na diluição 1:50, causou uma maior frequência de indivíduos com tumores não são diretamente o foco desta pesquisa, sendo necessário novos estudos com esse propósito.

Esta pesquisa realizou uma análise *in vitro*, não podendo ser diretamente correlacionada com as características clínicas do material, entretanto, durante o tratamento endodôntico espera-se que o cimento obturador fique contido no interior do canal radicular e que apenas uma quantidade mínima do material tenha contato com os tecidos periapicais e, portanto, a concentração do material tende a ser baixa nesta região. Pensando desta forma, mesmo que o cimento esteja sem nenhuma diluição no interior do canal radicular o volume que será solubilizado em contato com os fluidos será mínimo, diminuindo, assim, o possível risco de efeito carcinogênico.

Entretanto, na prática endodôntica atual vários autores defendem o conceito de "surplus apical", ou seja, de que durante a obturação do canal radicular, ocorra o extravasamento de cimento para a região periapical, para garantir dessa forma um melhor vedamento apical. Correlacionado esta conduta com os resultados deste trabalho, sugerimos que haja cautela com o volume de material extravasado na região do periápice, uma vez que nas maiores concentrações testadas observou-se uma maior incidência de tumores.

4. Conclusão

De acordo com os resultados obtidos em nosso trabalho, o cimento endodôntico Bio-C Sealer apresentou um aumento na taxa de frequência tumoral com comportamento dose-dependente em *D. melanogaster*. A concentração 1:50 foi estatisticamente semelhante ao controle positivo, podendo ser atribuído a ela um potencial carcinogênico.

Assim, apesar do resultado deste presente estudo, é importante ressaltar que os mecanismos exatos pelos quais o cimento biocerâmico, na diluição 1:50, causou uma maior frequência de indivíduos com tumores e também com taxa de incidência de tumores não foram diretamente o enfoque nesta pesquisa, sendo necessário novos estudos com esse propósito.

Agradecimentos

Agradeço a oportunidade que me foi concedida, ao apoio dos meus pais e da minha orientadora. Vocês fazem parte disso.

Referências

- Al-Haddad, A., & Che Ab Aziz, Z. A. (2016). Bioceramic-Based Root Canal Sealers: A Review. *International journal of biomaterials*, 2016, 9753210. <https://doi.org/10.1155/2016/9753210>
- Almeida, V. L., Leitão, A., Reina, L. del C. B., Montanari, C. A., Donnici, C. L., & Lopes, M. T. P. (2005). Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: Uma introdução. *Química Nova*, 28(1), 118–129. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000100021>
- Barcelos S6, B., Martins, M. D., Reis S6, M. V., Weissheimer, T., Marques, M. M., & Moreira, M. S. (2022). Genotoxicity and cytotoxicity comparison of calcium silicate-based and resin-based sealers on human periodontal ligament stem cells. *European Endodontic Journal*, 7(2), 129–134. <https://doi.org/10.14744/ej.2022.09326>
- Bueno, C. R. E., Valentim, D., Marques, V. A. S., Gomes-Filho, J. E., Cintra, L. T. A., Jacinto, R. C., & Dezan-Junior, E. (2016). Biocompatibility and biomineralization assessment of bioceramic-, epoxy-, and calcium hydroxide-based sealers. *Brazilian Oral Research*, 30. <https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2016.vol30.0081>
- Candeiro, G. T. de M., Correia, F. C., Duarte, M. A. H., Ribeiro-Siqueira, D. C., & Gavini, G. (2012). Evaluation of radiopacity, pH, release of calcium ions, and flow of a bioceramic root canal sealer. *Journal of Endodontics*, 38(6), 842–845. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.02.029>

- Costa, W. (2005). *Efeito protetor de antioxidantes (Vitaminas c, e e beta-caroteno) e minerais (Cobre, selênio e zinco) contra a ação genotóxica da doxorubicina em células somáticas de Drosophila melanogaster* (Universidade Federal de Uberlândia). Universidade Federal de Uberlândia. <https://doi.org/10.14393/ufu.di.2005.29>
- Colombo, M., Poggio, C., Dagna, A., Meravini, M.-V., Riva, P., Trovati, F., & Pietrocola, G. (2018). Biological and physico-chemical properties of new root canal sealers. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 10(2), e120–e126. <https://doi.org/10.4317/jced.54548>
- Donnermeyer, D., Bürklein, S., Dammaschke, T., & Schäfer, E. (2019a). Endodontic sealers based on calcium silicates: A systematic review. *Odontology*, 107(4), 421–436. <https://doi.org/10.1007/s10266-018-0400-3>
- Estrela, C. (2018). *Metodologia Científica: Ciência, Ensino, Pesquisa*. Editora Artes Médicas.
- Fonseca, D. A., Paula, A. B., Marto, C. M., Coelho, A., Paulo, S., Martinho, J. P., Carrilho, E., & Ferreira, M. M. (2019). Biocompatibility of Root Canal Sealers: A Systematic Review of In Vitro and In Vivo Studies. *Materials (Basel, Switzerland)*, 12(24), 4113. <https://doi.org/10.3390/ma12244113>
- Ghabraei, S., Bolhari, B., Yaghoobnejad, F., & Meraji, N. (2017). Effect of intra-canal calcium hydroxide remnants on the push-out bond strength of two endodontic sealers. *Iranian Endodontic Journal*, 12(2), 168–172. <https://doi.org/10.22037/iej.2017.33>
- Jafari, F., & Jafari, S. (2017). Composition and physicochemical properties of calcium silicate based sealers: A review article. *Journal of clinical and experimental dentistry*, 9(10), e1249–e1255. <https://doi.org/10.4317/jced.54103>
- Jeanneau, C., Giraud, T., Milan, J. L., & About, I. (2020). Investigating unset endodontic sealers' eugenol and hydrocortisone roles in modulating the initial steps of inflammation. *Clinical oral investigations*, 24(2), 639–647. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-02957-2>
- Kaur, A., Shah, N., Logani, A., & Mishra, N. (2015). Biotoxicity of commonly used root canal sealers: A meta-analysis. *Journal of conservative dentistry : JCD*, 18(2), 83–88. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.153054>
- Keizer, H. G., Pinedo, H. M., Schuurhuis, G. J., & Joenje, H. (1990). Doxorubicin (adriamycin): a critical review of free radical-dependent mechanisms of cytotoxicity. *Pharmacology & therapeutics*, 47(2), 219–231. [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(90\)90088-j](https://doi.org/10.1016/0163-7258(90)90088-j)
- Klein-Junior, C. A., Zimmer, R., Dobler, T., Oliveira, V., Marinowic, D. R., Özkömür, A., & Reston, E. G. (2021). Cytotoxicity assessment of Bio-C Repair Íon+: A new calcium silicate-based cement. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 15(3), 152–156. <https://doi.org/10.34172/joddd.2021.026>
- López-García, S., Pecci-Lloret, M. R., Guerrero-Gironés, J., Pecci-Lloret, M. P., Lozano, A., Llana, C., & Forner, L. (2019). Comparative cytocompatibility and mineralization potential of bio-c sealer and totalfill bc sealer. *Materials*, 12(19), 3087. <https://doi.org/10.3390/ma12193087>
- Malta, C. P., Silva Barcelos, R. C., Segat, H. J., Burger, M. E., Souza Bier, C. A., & Morgental, R. D. (2022). Toxicity of bioceramic and resinous endodontic sealers using an alternative animal model: Artemia salina. *Journal of Conservative Dentistry : JCD*, 25(2), 185–188. https://doi.org/10.4103/jcd.jcd_401_21
- Marín-Bauza, G. A., Silva-Sousa, Y. T., da Cunha, S. A., Rached-Junior, F. J., Bonetti-Filho, I., Sousa-Neto, M. D., & Miranda, C. E. (2012). Physicochemical properties of endodontic sealers of different bases. *Journal of applied oral science : revista FOB*, 20(4), 455–461. <https://doi.org/10.1590/s1678-77572012000400011>
- Martins, M. P., Valencia, Y. M., Moraes, I. G., Vivan, R. R., & Duarte, M. A. H. (2017). Cimento biocerâmico em retratamento endodôntico: relato de caso. *Journal of Applied Oral Science*. Bauru: Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
- Moura, C., Cristina Cunha, T., Oliveira Crema, V., Dechichi, P., & Carlos Gabrielli Biffi, J. (2014). A study on biocompatibility of three endodontic sealers: intensity and duration of tissue irritation. *Iranian endodontic journal*, 9(2), 137–143.
- Nepomuceno, J. C. (2015). Using the drosophila melanogaster to assessment carcinogenic agents through the test for detection of epithelial tumor clones (Warts). *Advanced Techniques in Biology & Medicine*, 03(03). <https://doi.org/10.4172/2379-1764.1000149>
- Raghavendra, S. S., Jadhav, G. R., Gathani, K. M., & Kotadia, P. (2017). Bioceramics in endodontics - a review. *Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry*, 51(3 Suppl 1), S128–S137. <https://doi.org/10.17096/jiufd.63659>
- Sakko, M., Tjäderhane, L., & Rautemaa-Richardson, R. (2016). Microbiology of Root Canal Infections. *Primary dental journal*, 5(2), 84–89. <https://doi.org/10.1308/205016816819304231>
- Silva, E. J., Santos, C. C., & Zaia, A. A. (2013). Long-term cytotoxic effects of contemporary root canal sealers. *Journal of applied oral science : revista FOB*, 21(1), 43–47. <https://doi.org/10.1590/1678-7757201302304>
- Torres, F., Guerreiro-Tanomaru, J. M., Bosso-Martelo, R., Espir, C. G., Camilleri, J., & Tanomaru-Filho, M. (2019). Solubility, Porosity, Dimensional and Volumetric Change of Endodontic Sealers. *Brazilian dental journal*, 30(4), 368–373. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201902607>
- Vasconcelos, M. (2016). *Avaliação do efeito carcinogênico de edulcorantes por meio do teste para detecção de clones de tumores epiteliais (Warts) em Drosophila melanogaster* (Universidade Federal de Uberlândia). Universidade Federal de Uberlândia. <https://doi.org/10.14393/ufu.di.2016.441>
- Washio, A., Morotomi, T., Yoshii, S., & Kitamura, C. (2019). Bioactive Glass-Based Endodontic Sealer as a Promising Root Canal Filling Material without Semisolid Core Materials. *Materials (Basel, Switzerland)*, 12(23), 3967. <https://doi.org/10.3390/ma12233967>
- Yang, F., Teves, S. S., Kemp, C. J., & Henikoff, S. (2014). Doxorubicin, DNA torsion, and chromatin dynamics. *Biochimica et biophysica acta*, 1845(1), 84–89. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2013.12.002>
- Zoufan, K., Jiang, J., Komabayashi, T., Wang, Y. H., Safavi, K. E., & Zhu, Q. (2011). Cytotoxicity evaluation of Gutta Flow and Endo Sequence BC sealers. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 112(5), 657–661. <https://doi.org/10.1016/j.jtriple.2011.03.050>