

Vincenzo Campanella  
Gianni Gallusi  
Ilaria Ballesio  
Paolo Paolucci  
David Cao

Università degli Studi di Roma  
"Tor Vergata"  
Cattedra di Odontoiatria Conservatrice  
Titolare: Prof. Vincenzo Campanella

Corrispondenza:  
Prof. Vincenzo Campanella  
Via Monte delle Gioie, 24  
00199 Roma  
Tel. 0039-0686211150  
E-mail: vincampa@excite.it

## Valutazioni istopatologiche *in vivo* di quattro cementi da endodonzia

### Hystopathological evaluation of four endodontic sealers

#### RIASSUNTO

Scopo del presente lavoro è stata la valutazione istopatologica della risposta tissutale al contatto diretto con quattro cementi canalari: Argoseal, Bioseal, Superseal e PCS. I materiali sono stati inoculati nel tessuto sottocutaneo di 36 topi della linea CD1, sacrificati a 1, 3 e 9 settimane. A 9 settimane si riscontra in tutti gli inoculi la presenza di una capsula fibroconnettivale continua delimitante la sede dell'inoculo.

**Parole chiave:**

**Biocompatibilità, cementi endodontici.**

#### ABSTRACT

Aim of the present study was the evaluation of the hystopathological tissular reaction after direct contact with four endodontic sealers: Argoseal, Bioseal, Superseal and PCS. The tested materials were inoculated in the subcutaneous tissue of 36 mice, line CD1, killed after 1, 3 and 9 weeks. At 9<sup>th</sup> week, for all sealers tested was observed the presence of a continuous fibrous cap, with a variable morphology, delimitating the injection sites.

**Key words:**

**Biocompatibility, endodontic sealers.**

#### INTRODUZIONE

L'obiettivo principale della terapia endodontica è l'eliminazione dell'infiammazione periapicale ottenuta con adeguato allargamento, detersione e obturazione canalare tridimensionale.

L'utilizzo di materiali da obturazione privi di tossicità e dotati di proprietà quali capacità

di adattarsi al sistema canalare radicolare, stabilità dimensionale, resistenza all'umidità, non riassorbibilità, è necessario per il raggiungimento degli obiettivi prefissati. Nessun materiale, da solo, risponde a queste esigenze ed è necessaria l'associazione di guttaperca con un cemento sigillante per avvicinarsi ad un sistema di obturazione con caratteristiche ideali. La guttaperca ha il compito di riempire i canali ed il cemento di migliorare il sigillo, aderendo alle pareti dentinali e andando a riempire tutti gli spazi non raggiungibili da un materiale semisolido. L'ermeticità del sistema può avvenire anche in presenza di un'eventuale estrusione oltre l'apice di una piccola quantità di cemento. Da qui la necessità di analizzare le reazioni tissutali ai vari materiali, per valutare in modo più approfondito la validità e l'efficacia dei materiali oggi in commercio.

#### MATERIALI E METODI

I cementi utilizzati nel test - Argoseal (Ogna, Milano, Italia), Bioseal (Ogna, Milano, Italia), Superseal (Ogna, Milano, Italia) e PCS (Kerr GmbH, Karlsruhe, Germania) sono co-

stituiti da una polvere ed un liquido (Tab. 1) che devono essere miscelati al momento dell'uso, in modo da ottenere un impasto da utilizzare come sigillante associato a guttaperca nella chiusura tridimensionale del sistema endodontico. Non essendo presenti dati relativi alla sicurezza biologica dei materiali oggetto della sperimentazione, si è proceduto alla prova di impianto sottocutaneo in cavie per valutarne gli effetti locali (1-3).

La polvere ed il liquido, prelevati da una confezione nuova, sono stati miscelati secondo le istruzioni fornite dal fabbricante; per l'impasto sono state utilizzate una piastra ed una spatola sterili, in modo da ridurre al minimo la contaminazione. La pasta così preparata è stata inserita in una siringa sterile da tuberculina da 1 ml, con ago di diametro di 25 G 1/2 (tre quarti) (1,4,5). Sono stati utilizzati femmine di topi CD1 di 4 settimane, di peso oscillante dai 18 ai 22 grammi. Gli animali, forniti dalla Charles River (Italia), sono stati mantenuti con normale regime dietetico ad una temperatura compresa tra 22 e 26°C. All'inizio dell'esperimento, sono state verificate le condizioni di stabulazione degli animali. I topi sono stati anestetizzati con soluzione fenobarbital all'1% in PBS (a pH 7,5), iniettan-

ARGOSEAL	BIOSEAL	SUPERSEAL	PCS
<b>Polvere</b> Argento Ossido di zinco Resina naturale Resina artificiale	<b>Polvere</b> Idrossiapatite Solfato di bario Diiodotimolo Resina naturale Ossido di zinco Acetato di zinco Idrossido di calcio	<b>Polvere</b> Ossido di zinco Ossido di alluminio Tungstato di calcio Resina naturale	<b>Polvere</b> Ossido di zinco Resina oleosa Precipitato d'argento Timolo diiodato
<b>Liquido</b> Eugenolo bidistillato Oleoresina	<b>Liquido</b> Eugenolo bidistillato Oleoresina purificata	<b>Liquido</b> Eugenolo bidistillato Acido 2-etossibenzoico	<b>Liquido</b> Eugenolo

Tab. 1 - Composizione dei cementi utilizzati nello studio

do per via intraperitoneale 150 µl di soluzione per animale. La zona di inoculo è stata disinfettata con perossido di idrogeno al 3% e deteresa successivamente con soluzione fisiologica sterile. In condizioni di asepsi, 200 µl di ogni materiale sono stati inoculati nel tessuto sottocutaneo del dorso di quattro gruppi di 9 topi ciascuno, effettuando un innesto per ogni animale (2,3). La scelta di questa metodica è giustificata per il minimo trauma chirurgico che determina e per il maggior contatto che il materiale ha con i tessuti rispetto all'uso di tubi in teflon inseriti mediante incisione chirurgica (5). Gli animali, mantenuti in condizioni di cura secondo i regolamenti relativi agli animali da laboratorio nello stabulario dell'Università di Roma "Tor Vergata", sono stati controllati e osservati il giorno successivo, dopo 3 giorni e quindi a intervalli regolari di 1 settimana. Tutti i siti di inoculo sono stati esaminati con sistema ingranditore 4x ed è stata annotata la reazione macroscopica osservata. La stabularista era addestrata, inoltre, ad annotare ogni eventuale alterazione dello stato di cura degli animali, informando il responsabile della sperimentazione di inattese morti improvvise.

I 9 topi di ogni gruppo sono stati ulteriormente suddivisi in tre sottogruppi di 3 animali ciascuno e ogni sottogruppo è stato sacrificato per dissecazione cervicale a distanza di 1, 3 e 9 settimane.

La zona di impianto è stata asportata insieme ad una quantità di tessuto circostante adeguata a consentire la valutazione istopatologica della risposta biologica locale.

Tutti i 36 siti di impianto sono stati recuperati e sono risultati idonei per la valutazione.

I tessuti prelevati sono stati fissati con fissativo di Bowin e inclusi in paraffina; le sezioni, realizzate con microtomo rotativo, sono state fatte parallelamente all'asse lungo dell'inoculo e colorate con ematossilina-eosina.

Sono state realizzate 2 sezioni per ogni pezzo, per un totale di 72 preparati.

## RISULTATI

L'analisi macroscopica della zona d'inoculo per l'Argoseal effettuata a 2 giorni dall'inoculo ha mostrato nella regione dorsale superiore destra un'evidente necrosi cutanea

con edema ed eritema circoscriventi la zona inoculata.

Per il Bioseal si è evidenziato edema cutaneo di grado lieve-moderato con fuoriuscita di cemento dalla zona d'inoculo, circoscritta da un'area eritematosa.

Nel caso del Superseal, nella regione dorsale superiore a destra è risultata evidente la presenza di cemento fuoriuscito dalla zona di inoculo. Si sono evidenziate ecchimosi moderate ed edema cutaneo.

Nel PCS è risultata la presenza di eritema e desquamazione estesa circoscrivente la zona d'inoculo.

A distanza di 1 settimana l'esame macroscopico ha mostrato, per l'Argoseal, un'estesa zona di desquamazione dell'epitelio con esposizione del connettivo sottostante in presenza di zone necrotiche.

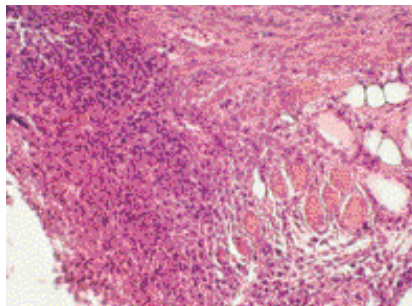
Il Bioseal, sempre ad 1 settimana, ha mostrato una piccola area di necrosi circoscritta e ben delimitata.

L'inoculo effettuato con il cemento Superseal ha evidenziato una piccola parte di cemento fuoriuscito dal sito d'inoculo, circoscritto da eritema e lievissima desquamazione.

Il PCS ha determinato segni di eritema e un'area necrotica di piccole dimensioni intorno al sito d'inoculo.

I controlli effettuati nelle settimane successive hanno evidenziato un progressivo miglioramento delle lesioni che, per tutti e quattro i cementi, mostravano una guarigione quasi completa (9 settimane).

L'esame microscopico effettuato a distanza di 1 settimana ha messo in evidenza, per l'Argoseal, la zona d'inoculo ben circoscritta e delimitata dalla presenza di fibroblasti e neoformazione di collagene accompagnata da un infiltrato infiammatorio di notevole entità (granulociti linfociti e plasmacellule); sono risultate presenti iperemia e dilatazione vasale (Fig. 1 e 2).



Nel sottogruppo del Bioseal sono stati evidenziati nell'area inoculata agglomerati di cellule infiammatorie acute raggruppate in piccole isole intorno al cemento, iperemia e vasodilatazione, proliferazione di fibroblasti (Fig. 3).

Il Superseal ha mostrato, nella zona perimetrale esterna alla cavità, un tessuto in cui erano presenti vasodilatazione, masse cospicue di fibrina, proliferazione di fibroblasti, numerosi granulociti e plasmacellule. Non si è osservata formazione di alcuna capsula fibrosa (Fig. 4 e 5).

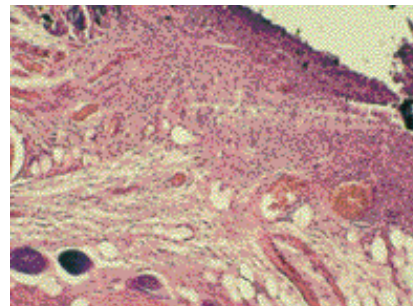
Nel caso del PCS, la reazione infiammatoria intorno alla zona inoculata è apparsa severa; si è osservato un aumento della quota di tessuto flogistico composto da neutrofili, istiociti e plasmacellule che vanno a circoscrivere il cemento iniettato. Sono inoltre risultate presenti aree di necrosi tissutale (Fig. 6).

A 3 settimane i quadri istopatologici dell'Argoseal mostravano una sottile capsula fibroconnettivale con rare cellule flogistiche. Era inoltre evidente scarso infiltrato infiammatorio, costituito prevalentemente da granulociti neutrofili (Fig. 7 e 8).

Il cemento Bioseal è apparso ben delimitato da una esile capsula fibroconnettivale. Gli elementi infiammatori presenti sono risultati scarsi e ridotti di numero rispetto all'esame istologico effettuato ad 1 settimana (Fig. 9 e 10).

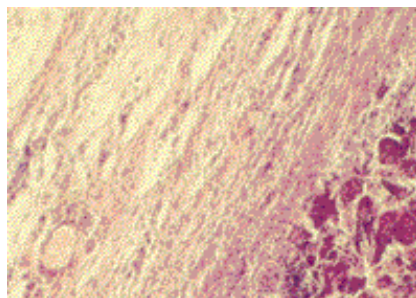
Il Superseal ha determinato la formazione di una esilissima capsula fibroconnettivale, in cui gli elementi infiammatori sono apparsi scarsi e dispersi intorno a tutta l'area perimetrale dell'inoculo (Fig. 11 e 12).

Il cemento PCS è risultato delimitato da una sottile rima di tessuto infiammatorio costituito prevalentemente da neutrofili istiociti e plasmacellule; appare evidente una diminuzione della reazione flogistica rispetto

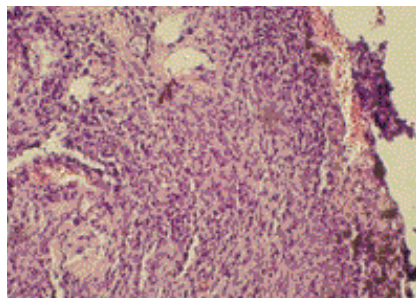


**Figg. 1 e 2** - Esame microscopico a 1 settimana per l'Argoseal. La zona di inoculo è circoscritta e delimitata da fibroblasti e collagene. Si osservano inoltre un infiltrato infiammatorio di notevole entità, iperemia e vasodilatazione.

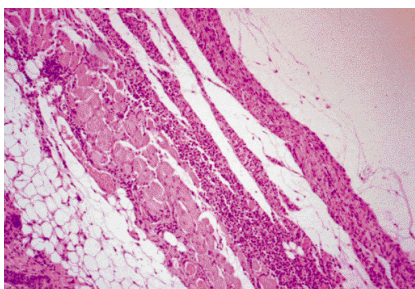
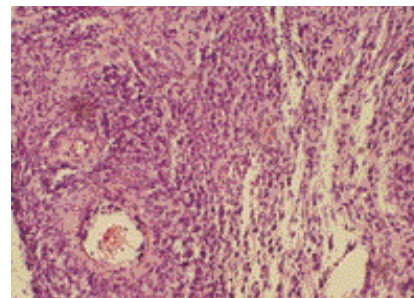




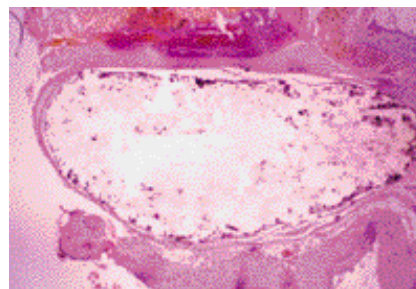
**Fig. 3** - All'esame istologico a 1 settimana dall'inoculo del Bioseal sono presenti agglomerati di cellule infiammatorie acute raggruppate in piccole isole intorno al cemento, iperemia, vasodilatazione e proliferazione di fibroblasti.



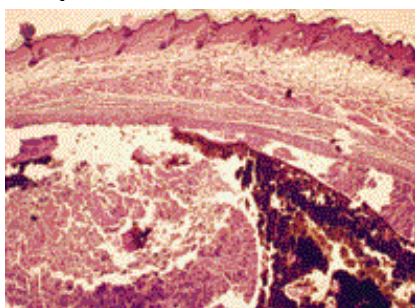
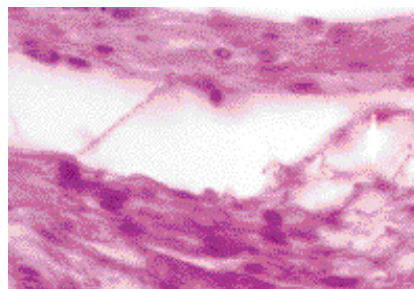
**Figg. 4 e 5** - Nel sito di inoculo del Superseal dopo 1 settimana si evidenziano nel perimetro cavitario vaso-dilatazione, masse cospicue di fibrina e proliferazione di fibroblasti. È evidente inoltre la presenza di granulociti e plasmacellule.



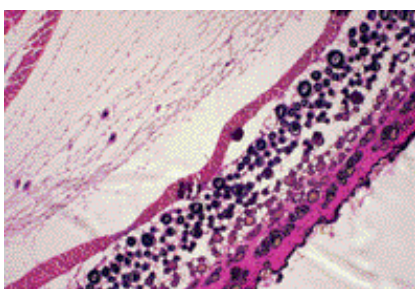
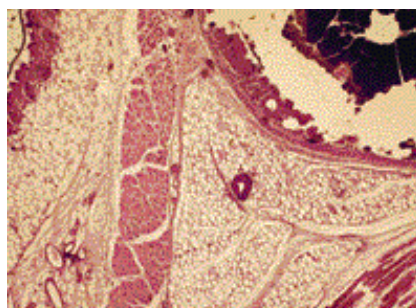
**Fig. 6** - Esame istologico a 1 settimana del PCS. Si osserva una reazione infiammatoria severa con aumento del tessuto flogistico (neutrofili, istiociti e plasmacellule) che circonda il cemento iniettato. Sono inoltre presenti aree di necrosi tissutale.



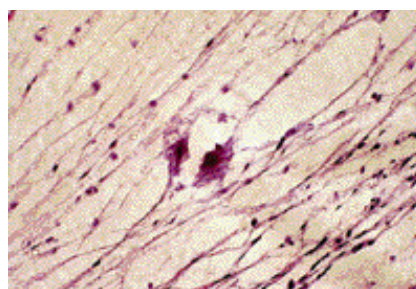
**Figg. 7 e 8** - Esame istologico dell'Argoseal a 3 settimane. Si evidenzia la presenza di una sottile capsula fibroconnettivale con rare cellule flogistiche. L'infiltrato infiammatorio è scarso e costituito prevalentemente da granulociti neutrofili.



**Figg. 9 e 10** - A 3 settimane il Bioseal si presenta delimitato da una sottile capsula fibroconnettivale. Gli elementi infiammatori presenti sono in numero minore rispetto al controllo a 1 settimana.

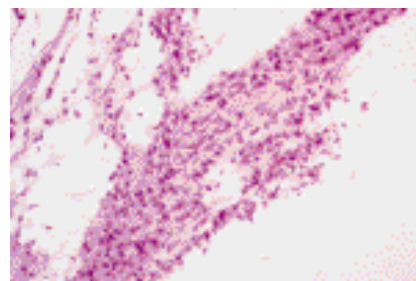


**Figg. 11 e 12** - L'esame istologico a 3 settimane del Superseal mostra la formazione di una esilissima capsula fibroconnettivale con scarsi elementi infiammatori dispersi intorno a tutta l'area perimetrale dell'inoculo.



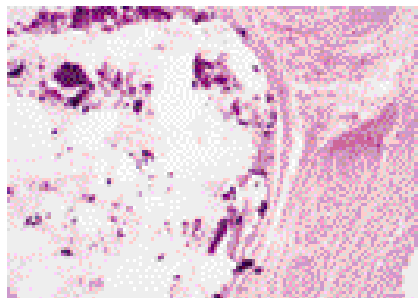
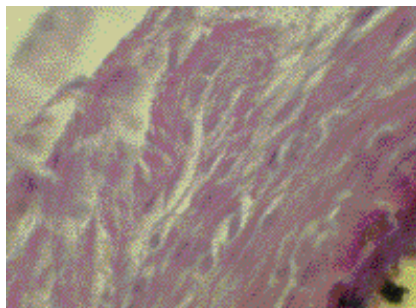
al controllo a 1 settimana (Fig. 13).

A 9 settimane sono stati rilevati i seguenti quadri istologici. Per l'Argoseal la cavità contenente il cemento è apparsa ben delimitata da tessuto fibroconnettivale, di spessore uniforme, circoscrivente la cavità in maniera continuativa. È stata riscontrata la presenza di cellule flogistiche (istiociti, granulociti neutrofili) e cellule giganti da corpo

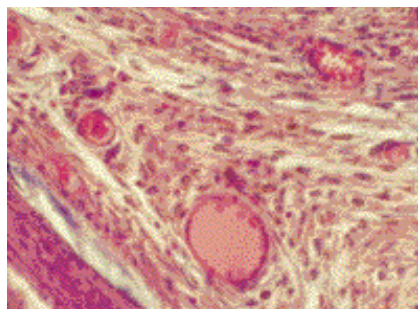
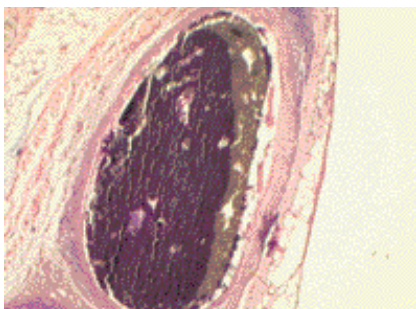


**Fig. 13** - Il sito di inoculo del PCS dopo 3 settimane si presenta delimitato da una sottile rima di tessuto infiammatorio costituito principalmente da neutrofili e plasmacellule. È evidente una riduzione della reazione infiammatoria rispetto al controllo ad una settimana.

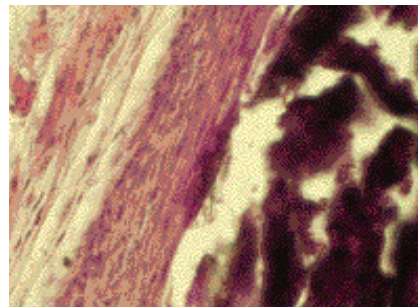
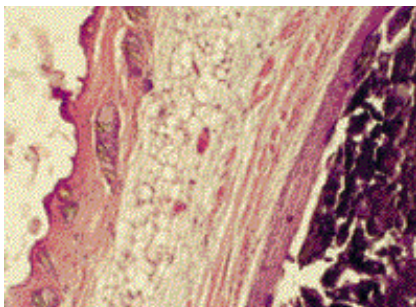




**Figg. 14 e 15** - A 9 settimane il sito di inoculo dell'Argoseal si presenta delimitato in modo continuativo da tessuto fibroconnettivo di spessore uniforme. Lungo il perimetro capsulare si riscontra la presenza di cellule flogistiche e cellule giganti da corpo estraneo.



**Figg. 16 e 17** - L'esame istologico del Bioseal mostra una cavità delimitata in maniera continuativa da una capsula fibroconnettiva di discreto spessore. Lungo l'estensione della capsula fibrosa si osserva una neoangiogenesi; sono presenti granulociti neutrofili e cellule giganti multinucleate.



**Figg. 18 e 19** - Esame microscopico del Superseal a 9 settimane. Si riscontra la presenza di una capsula di leggero spessore che circonda il cemento in modo continuativo. Le cellule dell'infiammazione cronica sono scarsamente presenti e vi sono poche cellule giganti.

estraneo localizzate lungo il perimetro capsulare (Figg. 14 e 15).

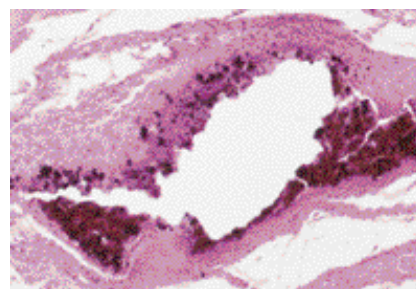
Il Bioseal ha determinato la presenza di una cavità contenente il cemento perfettamente conservata e delimitata da una capsula fibroconnettiva di discreto spessore che avvolgeva in maniera continua la cavità. Non sono risultate presenti interruzioni della capsula fibrosa. Di notevole importanza è risultata la presenza di una neoangiogenesi localizzata lungo l'estensione della capsula fibrosa. Sono stati evidenziati granulociti neutrofili e cellule giganti multinucleate. Ester-

namente alla capsula fibrosa è stata riscontrata, inoltre, la presenza di cellule dell'infiammazione cronica (Figg. 16 e 17).

Il cemento Superseal ha determinato la presenza nella zona d'inoculo di una capsula fibrosa di piccolo spessore, che circoscriveva in modo continuo il cemento inoculato. È stata osservata una scarsa presenza di cellule dell'infiammazione cronica, con poche cellule giganti (Figg. 18 e 19).

Nel PCS intorno alla cavità residuava ancora una discreta quota di cellule flogistiche costituita prevalentemente da elementi in-

fiammatori cronici come istiociti e plasmacellule. È risultata presente una sottile capsula connettivale composta da poche fibrille collagene e pochi fibroblasti. Non è risultata presente alcuna reazione desmoplastica (Fig. 20).



**Fig. 20** - Intorno al sito di inoculo del PCS a distanza di 9 settimane si osserva intorno alla cavità una discreta quota di tessuto flogistico costituito prevalentemente da elementi infiammatori cronici come istiociti e plasmacellule. È presente una sottile capsula connettivale composta da poche fibrille collagene e pochi fibroblasti. Non è presente alcuna reazione desmoplastica.

## CONCLUSIONI

All'analisi macroscopica tutti i siti di inoculo hanno presentato, a 2 giorni, una risposta infiammatoria di grado lieve-moderato, con segni di desquamazione dell'epitelio e, per i cementi Argoseal e PCS, aree di necrosi. Tale riscontro è dovuto probabilmente alla quantità di eugenolo presente nell'impasto. Al controllo a 9 settimane, in tutti i siti di inoculo si è osservato un miglioramento della risposta infiammatoria.

All'esame microscopico, nei controlli a breve termine sono evidenti elementi infiammatori, come neutrofili ed eosinofili, nell'area adiacente alla sede di inoculo e iperemia vasale diffusa, soprattutto per l'Argoseal ed il PCS. Nei controlli a 3 settimane, si è osservata la formazione di una capsula fibroconnettivale delimitante la zona di inoculo, più spessa per il Bioseal e l'Argoseal, sottile per il Superseal e assente per il PCS. Nei controlli a lungo termine (9 settimane), in tutti i siti di inoculo è risultata presente una continua capsula fibroconnettivale di delimitazione di spessore maggiore nei siti inoculati con Argoseal e Bioseal e di spessore minore in quelli in cui sono stati inoculati il Superseal ed il PCS.

## BIBLIOGRAFIA

1. Safavi K E, Pascon E A, Langeland K. Evaluation of tissue reaction to endodontic materials. *J. Endod.* 1983; 9 : 421-9.
2. Vesuksit C, Koren L Z, Morse Dr, Kobayashic. A comparative tissue toxicity evaluation of established and newer root canal sealer . *Oral Surg* 1988; 65 : 459-69 .
3. Gorduyusus MO, Etikon F, Gokoz A. Histopathological evaluation of the tissue reactions to Endo Fill canal sealant filling materials . *J Endod* 1998; 24:194-6.
4. Brown Rm. Animal tests for biocompatibility of dental materials-relevance , advantage and limitations. *J Dent* 1994; 22 Suppl 2: S 21-4.
5. Olsson B, Sliwkowski A, Langeland K. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic material. *J. Endod* 1981; 7: 355-69.