

Luciano Fonzi
Alberto Gasparoni
Laura Capezzuoli
Sandra Carboncini
Massimo Belli
Vassiolios Kaitzas

Cattedra di Istituzioni
di Anatomia Umana Normale
e dell'Apparato Stomatognatico (C.L.O.P.D.)
Università degli Studi di Siena
Prof. Luciano Fonzi

Considerazioni su prove di biocompatibilità "in vitro" ed "in vivo" di alcuni cementi endodontici

Biocompatibility *in vitro* and *in vivo* of some endodontic materials

RIASSUNTO

Anche in campo odontoiatrico, oltre che nelle altre branche della medicina, è sempre più sentita l'esigenza di migliorare costantemente la biocompatibilità dei materiali utilizzati a scopo terapeutico, soprattutto quando tali materiali sono destinati a "convivere" per lungo tempo con l'organismo ospite.

Nell'ambito di un vasto programma di ricerche, gli autori hanno voluto valutare la reale biocompatibilità di alcuni materiali endodontici scelti tra i più diffusi in Italia: a tale scopo sono stati effettuati test *in vitro* (test dell'emolisi di emazie di coniglio) ed *in vivo* (secondo la tecnica di Safavi ed al., che prevede l'innesto nel tessuto sottocutaneo di ratto del materiale da testare).

I risultati dei test hanno dimostrato quanto sia variabile il grado di biocompatibilità dei materiali sottoposti alla sperimentazione. Alcuni materiali hanno infatti provocato soltanto una lieve reazione tissutale, altri hanno determinato la formazione di imponenti infiltrati di cellule infiammatorie, macrofagi, cellule giganti da corpo estraneo e di colliquazione necrotica tissutale.

Parole chiave: Cementi endodontici. Tossicità. Biocompatibilità.

SUMMARY

The major goal of endodontic therapy has been achieved by condensing filling materials into the root canal. It is not uncommon to find excess material in the periapical tissue. It therefore becomes obligatory to use filling materials that have acceptable biocompatibility.

The purpose of this investigation was to obtain a "toxicity profile" of some root canal materials and to compare our observations to study results found in literature.

Gutta-percha and five endodontic filling cements were tested *in vivo* and *in vitro*. The *in vivo* biocompatibility involved the placement of the test material in 10 mm teflon tubes with an outer diameter of 1,3 mm which were then implanted subcutaneously into rats. The implants were left in situ for periods of 30 and 90 days. The hemolysis test was used for *in vitro* evaluations.

The histological examination showed cellular responses of different intensity and extent. In some cases severe infiltration of inflammatory cells and areas with necrosis were observed.

As a result, the root canal materials evaluated showed slight, moderate, and severe reactions, therefore, a different pattern in tissue response.

Key words: Endodontic materials. Toxicity. Biocompatibility.

Fonzi L, Gasparoni A, Capezzuoli L, Carboncini S, Belli M, Kaitzas V. Considerazioni su prove di biocompatibilità *in vitro* ed *in vivo* di alcuni cementi endodontici. *G It Endo* 1991; 3: 70-78

INTRODUZIONE

Molte branche della medicina quali ad esempio la cardiologia, l'ortopedia, l'odontoiatria, l'oftalmologia, la neurochirurgia, si trovano nella necessità di usare materiali destinati a "convivere" con l'organismo. Di qui la continua ricerca atta a perfezionare la biocompatibilità di tali materiali o a valutarne il grado di tossicità verso l'organismo e la reazione di questo verso il materiale stesso.

Per quanto concerne l'odontoiatria, i materiali posti a contatto più o meno diretto dei

vari tessuti dentali o parodontali formano un gruppo eterogeneo comprendente amalgame, compositi, ceramiche, cementi, paste sigillanti, materiali polimeri, etc. La esigenza di migliorare le proprietà di questi materiali ha indotto le Case produttrici a far uso, per la loro composizione, di svariate sostanze, notoriamente pericolose, che se da un lato migliorano indubbiamente le proprietà funzionali dei materiali, dall'altro rendono il materiale stesso estremamente dannoso qualora non si mettano in atto particolari accorgimenti atti ad isolarlo perfettamente dai tessuti dento-parodontali. Una delle caratteristiche essenziali infatti che un mate-

riale per uso odontoiatrico deve possedere è la mancanza (o quantomeno scarsa) tossicità nei confronti sia del tessuto con il quale è destinato a "convivere" (tossicità locale) che dell'organismo preso nel suo insieme (tossicità generale). Come per tutti gli altri materiali per uso medico, infatti, anche quelli per uso odontoiatrico sono soggetti, nella maggior parte dei Paesi, a prove severe in grado di garantirne la biocompatibilità dei contenuti e/o a moderarne gli effetti dannosi (1,2).

A seconda della loro utilizzazione si deve tener conto del tempo durante il quale questi materiali restano a contatto con le muco-

se della cavità buccale o con i tessuti del dente e su questi, rispetto al tempo, della eventuale variabile tossicità. Se l'azione più o meno irritante dei materiali da impronta può essere di breve durata, l'eventuale azione citotossica proveniente dai materiali da ricostruzione o dai materiali utilizzati abitualmente in Endodonzia potrebbe esercitarsi in modo ben più pericoloso (3,4,5,6). Ne deriva così la necessità di procedere, tramite test appropriati e precise metodologie di indagine, alla valutazione qualitativa e quantitativa delle reazioni tissutali verso i materiali utilizzati.

Ciò consentirebbe anche, nel migliorare la definizione delle proprietà fisico-chimiche dei materiali stessi, di rilevarne l'eventuale tossicità locale e/o generale nei confronti dell'organismo o dei tessuti con i quali i materiali vengono a contatto.

Questa indagine si inserisce nell'ambito di un vasto programma di ricerche tendenti a saggiare il grado di biocompatibilità dei cementi endodontici. Sulla scorta di significativi risultati precedentemente ottenuti (7) abbiamo ritenuto opportuno approfondire le nostre conoscenze su questa tematica testando, con una più fine ed accurata metodologia, una serie di cementi endodontici selezionati in base alla loro differente composizione.

La scelta dei cementi endodontici quali materiali da testare in via prioritaria appare motivata da diverse circostanze:

- 1) Tutti i cementi possiedono dei costituenti potenzialmente irritanti e tossici.
- 2) I cementi endodontici vengono a contatto con i tessuti parodontali e sono destinati a "convivere" con questi per un notevole periodo di tempo.
- 3) La variabile caratterizzazione anatomica dell'apice radicolare, anche conseguente a modifiche da patologie in atto, obbliga ad una perfetta conoscenza delle proprietà biologiche e chimico-fisiche dei cementi nonché ad un loro corretto ed appropriato uso.

vitro ed *in vivo* sono quelli contrassegnati nella Tabella 1 con lettere F, G, H, L.

I cementi contrassegnati con le lettere B, C, D, E, sono stati testati in un'indagine preliminare (Perrini N., Fonzi L.).

I test sono stati effettuati anche sulla gutta-perca (Campione A).

Prove *in vivo*

Sono stati utilizzati 42 ratti maschi di ceppo Sprague-Dawley, di peso corporeo di circa 250 gr.

La biocompatibilità è stata valutata con la tecnica dell'impianto sottocutaneo secondo Safavi ed al.

Sono stati usati allo scopo tubicini di teflon lunghi 10 mm con un diametro interno di 1,3 mm precedentemente lavati con cloriformio, alcol e acqua e quindi sterilizzati in autoclave prima di essere riempiti con il materiale da saggiare.

La miscela costituita dai vari componenti di ogni materiale endodontico è stata immessa nei tubicini di teflon per mezzo di una pompa peristaltica (Pharmacia, Peristaltic Pump P1) e lasciata solidificare subito prima dell'innesto. Si è preferito solidificare il materiale endodontico nei tubicini di Teflon prima dell'impianto per evitarne la fuoriuscita nel tessuto sottocutaneo, inconveniente che comunemente si verifica allorché il materiale endodontico viene inserito direttamente nei tubicini innestati. La metodica da noi prescelta, pur eliminando la possibilità di valutare la tossicità iniziale dei composti endodontici prima della solidificazione (peraltro molto rapida) è apparsa essere, in uno studio preliminare, come quella più valida dal punto di vista metodologico. Gli animali sono stati divisi in 7 gruppi, di 6 animali ciascuno, corrispondenti ai cementi testati e al gruppo di controllo. Tre animali di ciascun gruppo venivano sacrificati al 30° giorno, gli altri al 90° giorno dall'innesto.

Ogni animale ha ricevuto tre impianti sottocutanei nella regione dorsale. Come controllo sono stati usati tubicini di teflon vuoti. Gli animali sono stati anestetizzati con etere etilico e la zona di impianto è stata accuratamente disinfettata.

I tubicini, sia quelli vuoti usati come controllo che quelli contenenti materiale da saggiare, sono stati inseriti nel sottocutaneo

con l'aiuto di un apposito tubicino metallico a becco di clarino precedentemente sterilizzato, ad una distanza di 20 mm dal foro di ingresso dell'ago.

Gli animali sono stati sacrificati dopo 30 e 90 giorni dal trattamento.

I tubicini contenenti i materiali endodontici sono stati asportati col tessuto circostante e fissati in Karnowsky. Dopo la fissazione, la porzione terminale del tubicino con il tessuto circostante veniva inclusa in metacrilato. Le sezioni di tessuto (circa 1 micron di spessore), sono state colorate con ematossilina-eosina.

I preparati istologici sono stati esaminati da due diversi osservatori e le reazioni tissutali riscontrate sono state classificate come: lievi, moderate o severe.

Per la microscopia elettronica a trasmissione abbiamo usato il microscopio elettronico a trasmissione Zeiss EM9. I prelievi, fissati in Karnowsky e successivamente postfissati in acido osmico, sono stati inclusi in Epon 812 e affettati, a 400 Å di spessore, con l'ultramicrotomo Ultratome IV LKB.

Prove *in vitro*

Riportiamo a esclusivo titolo di comparazione con la metodica usata nella presente indagine, il test utilizzato nelle nostre precedenti esperienze sui campioni B, C, D, E, I per i quali è stato adottato l'"Agar Overlay Test" secondo Wannberg ed al. (8).

La citotossicità è stata valutata su materiali preparati al momento (gruppo A) e su materiali lasciati solidificare 24 ore (gruppo B).

Per tale studio sono state utilizzate cellule epiteliali umane (NCTC 2544) coltivate in MEM (Eagle's Minimal Essential Medium) tamponato con bicarbonato con aggiunta di siero di capra al 10% e antibiotici. Le cellule sono state incubate a 37°C in atmosfera umidificata al 5% di CO₂ e 95% di aria.

Piastre per colture cellulari (Falcon 3002) sono state ricoperte con 10 ml di medium contenente 1,5 x 10⁶ cellule. Le cellule monostratificate, ottenute dopo 24 ore di incubazione, sono state ricoperte con Agar Medium (Eagle's MEM x 2 e Agar 1,5%) e quindi colorate, incubandole per 15 minuti, in una soluzione allo 0,01% di NRVD (Neutral Red Vital Dye).

A questo punto i materiali endodontici da e-

MATERIALI E METODI

I cementi endodontici sottoposti in questa indagine alle prove di biocompatibilità *in*

Tab. 1

Campione	Composizione	Composizione			
		polvere		liquido	
A	Guttaperca Ossido di zinco Solfato di bario Agenti coloranti				
B		Ossido di Zinco	274.5 mg	Eugenolo	740.0 mg
		Stearato di Zinco	32.0 mg	Colofonia	89.5 mg
		Acetato di Zinco	42.0 mg	Olio di Ricino	50.0 mg
		Biossido di Titanio	141.0 mg	Glicerina	31.0 mg
		Desametazone Acetato	0.5 mg	Etanolo	89.5 mg
		Polyoxymetilene	152.0 mg		
		Tungstato di Calcio	353.0 mg		
		Olio di Anice	5.0 mg		
			1000.0 mg		1000.0 mg
C		Ossido di Zinco	375.0 mg	Eugenolo	740.0 mg
		Stearato di Zinco	32.0 mg	Colofonia	89.5 mg
		Acetato di Zinco	42.0 mg	Olio di Ricino	50.0 mg
		Biossido di Titanio	138.0 mg	Glicerina	31.0 mg
		Desametazone Acetato	0.5 mg	Etanolo	89.5 mg
		Idrocortisone Acetato	10.0 mg		
		Nitrofurazione	5.0 mg		
		Polyoxymetilene	50.0 mg		
		Tungstato di Calcio	342.5 mg		
		Olio di Anice	5.0 mg		
		1000.0 mg		1000.0 mg	
D		Ossido di Zinco	35.0 mg	Eugenolo	59.0 mg
		Acetato di Zinco	7.0 mg	Colofonia	15.9 mg
		Biossido di Titanio	22.5 mg	Olio di Ricino	12.0 mg
		Tungstato di Calcio	35.0 mg	Glicerina	2.5 mg
		Olio di Anice	5.0 mg	Etanolo	10.6 mg
			100.0 mg		100.0 mg
E		Ossido di Zinco	38.0 mg	Olio di Garofano	80.0 mg
		Argento	28.0 mg	Balsamo del Canada	20.0 mg
		Oleoresina	24.0 mg		
		Ioduro di Timolo	11.5 mg		
		100.0 mg		100.0 mg	
F	Ossido di silice Calcio Sodio e fosforo Alluminio				
G	Beta-fosfatotricalcico				
H		Ossido di Zinco	41,2 %	Eugenolo bidistillato	78,00 %
		Idrossilapatite	30 %	Oleo-resina purificata	22,00 %
		Resina naturale	16 %		
		Diiodotimolo	12,79 %		
L		Ossido di Zinco	42 %	Eugenolo	
		Resina Staybelite	27 %		
		Subcarbonato di Bismuto	15 %		
		Solfato di Bario	15 %		
		Borato di Sodio Anidro	1 %		

Nella composizione dei cementi endodontici sono presenti i più svariati costituenti: l'ossido di zinco, l'eugenolo (un irritante

che può comportarsi da allergene allorché non sia puro al seguito di bidistillazione), costituenti per conferire al materiale

la radioopacità, l'adesività o proprietà antistettiche o antiinfiammatorie: ecco dunque l'argento, le resine, i cortisonici ecc.

saminare sono stati posti sulla superficie dell'Agar e le colture sono state incubate per 24 ore in termostato a CO₂.

L'effetto dei materiali saggiati è stato valutato al microscopio a luce invertita. Le zone di lisi corrispondenti ai campioni esaminati e visibili come zone decolorate sono state valutate da due diversi operatori.

È stata utilizzata per tale test la seguente scala di citotossicità:

Negativo: ---

Lieve: + --

Moderata: + + -

Severa: + + +

Nella presente indagine, riferita ai cementi contrassegnati dalle lettere F, G, H, L ed A (guttaperca), è stato adottato il test dell'emolisi di emazie di coniglio su materiali lasciati solidificare per 12 ore.

I materiali solidificati (5 gr per ogni campione) e finemente triturati sono stati incubati per 30 minuti a 37°C in 10 ml di soluzione fisiologica. Ad ogni campione sono stati aggiunti 0,2 ml di sangue fresco di coniglio

opportunamente diluito con soluzione fisiologica. Il controllo positivo è stato ottenuto aggiungendo 0,2 ml di sangue diluito a 10 ml di soluzione di carbonato di sodio allo 0,1%; il controllo negativo aggiungendo 0,2 ml di sangue diluito a 10 ml di soluzione fisiologica. Dopo 60 minuti di incubazione a 37°C, tutti i campioni sono stati centrifugati per 5 minuti a 500 gravità, e i supernatanti rimossi e trasferiti in cuvette spettrofotometriche.

La quantità di emoglobina rilasciata dal pro-

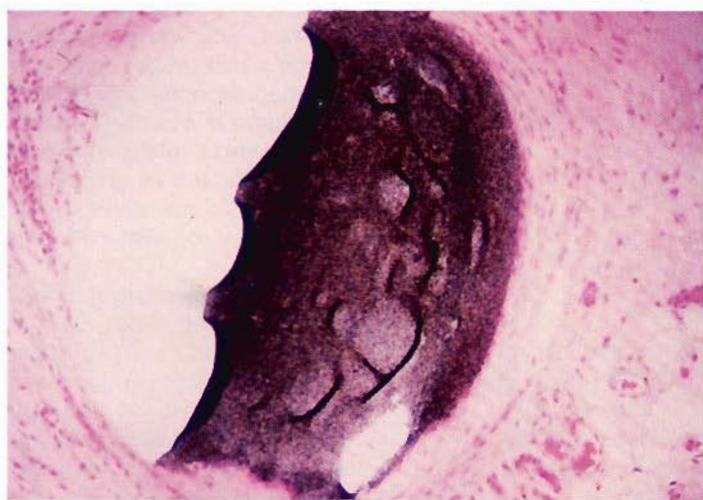


Fig. 1 - Tessuto attorno ai tubicini di teflon contenenti il campione A (guttaperca) - 90° giorno (E.E. 80x).

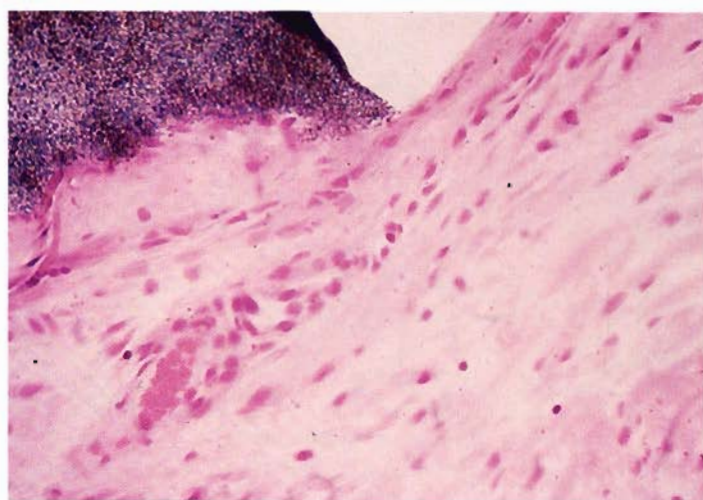


Fig. 2 - Particolare della figura precedente (E.E. 250x).

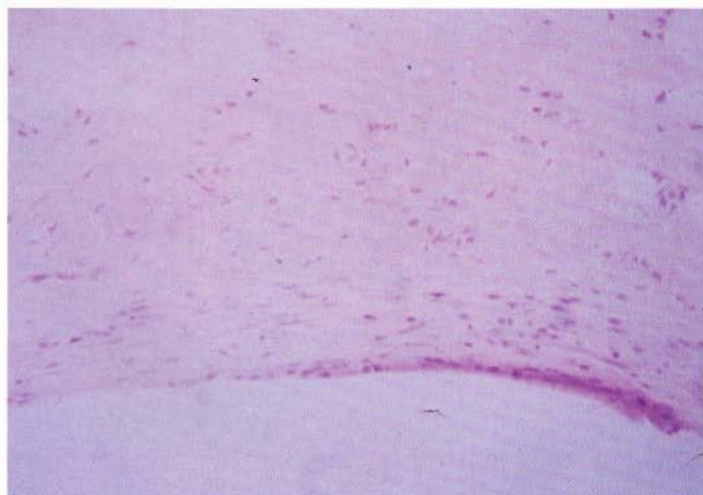


Fig. 3 - Tessuto in vicinanza del tubicino contenente il campione H: 30° giorno (E.E. 160x).

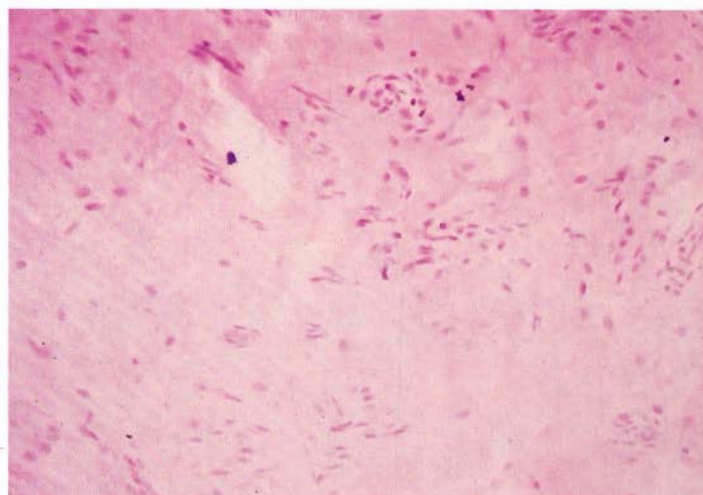


Fig. 4 - Campione H: 90° giorno (E.E. 100x).

cesso di lisi cellulare è stata determinata allo spettrofotometro a 545 nm.

La percentuale di emolisi si calcola usando la seguente formula:

$$\% \text{ Emolisi} = \frac{(A \text{ materiale dentario}) - (A \text{ controllo negativo}) \times 100}{(A \text{ controllo positivo}) - (A \text{ controllo negativo})}$$

Dove A è la D.O. di ogni campione letta a 545 nm.

RISULTATI

Prove *in vivo*

Il tessuto attorno ai tubicini di teflon contenenti guttaperca (Fig. 1), che appare come un ammasso centrale scuro, non mostra segni evidenziabili di infiammazione. A maggior ingrandimento infatti, si apprezzano una popolazione cellulare e una vascolarizzazione tipiche del tessuto connettivo

sano (Fig. 2).

Aspetti simili caratterizzano i preparati istologici relativi al composto F e riferiti a prelievi tissutali effettuati a distanza di 30 e 90 giorni.

Alcune lievissime reazioni istogene, peraltro osservate in un solo animale del gruppo dei 90 giorni, sembrano invece caratterizzare il cemento H. Il quadro istologico rileva in questo caso scarsi e parcellari infiltrati parvicellulari linfocitari in elettiva vicinanza della zona dell'innesto (Figg. 3-4-5). I prelievi tissutali provenienti dagli altri animali

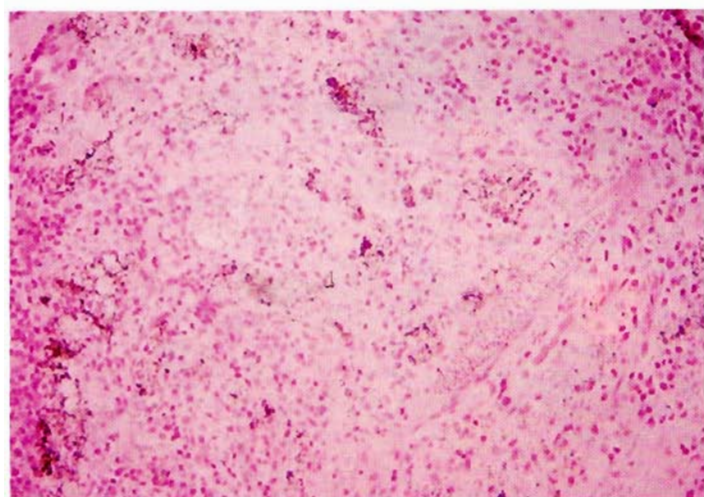


Fig. 5 - Campione H: 90° giorno (E.E. 100x).

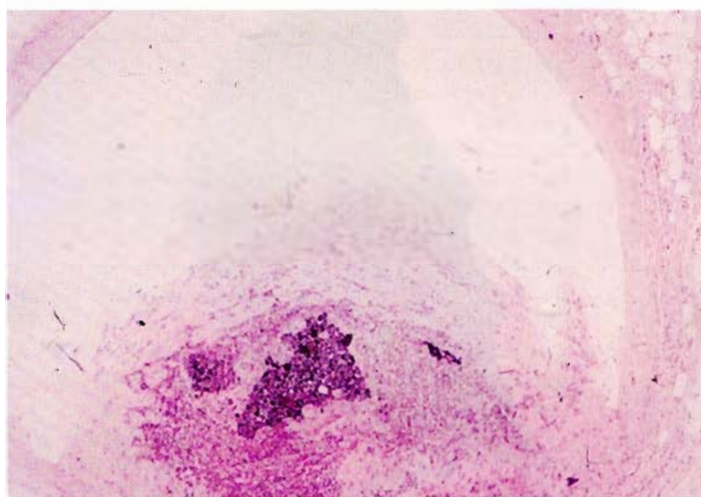


Fig. 6 - Campione L: 30° giorno. Reazione infiammatoria con infiltrato parvicellulare (E.E. 80x).

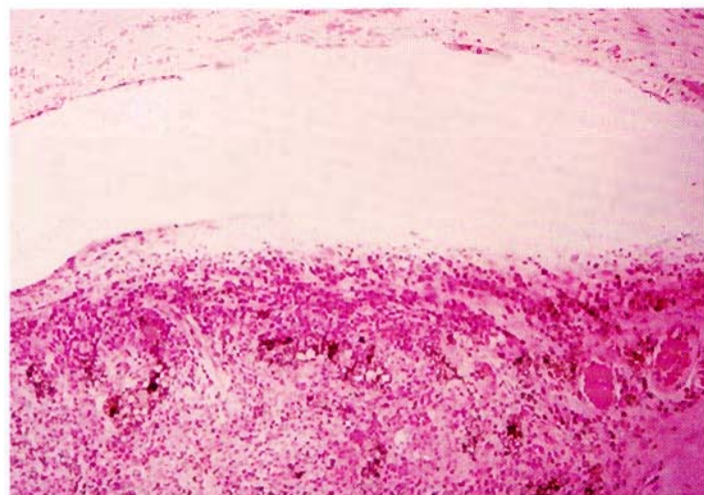


Fig. 7 - Campione L: 90° giorno. Infiltrato parvicellulare e cellule giganti (E.E. 120x).

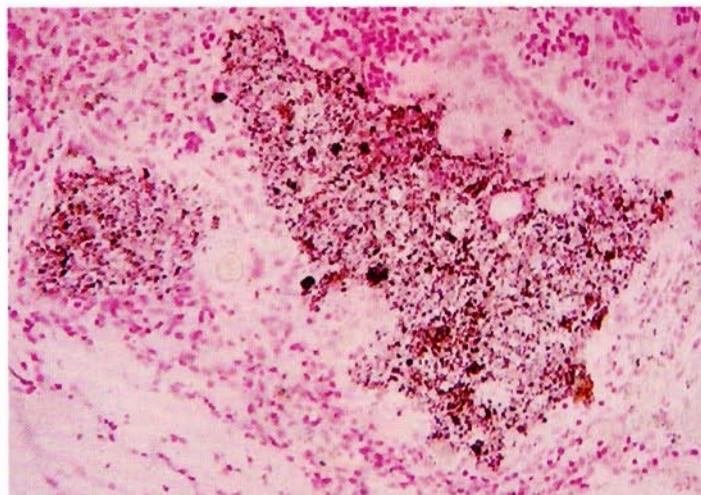


Fig. 8 - Campione L: 90° giorno. Infiltrato parvicellulare che circonda il materiale corpuscolato residuo (E.E. 100x).

(sia del gruppo a 30 che a 90 giorni) non evidenziano segni flogistici o di significativa infiltrazione.

Una risposta istologica differente la si osserva in tutti i tessuti provenienti dai due gruppi di ratti (30 e 90 giorni) trattati con il cemento L. Una evidente reazione tissutale definita da un imponente infiltrato parvicellulare costituisce il reperto costante all'osservazione microscopica (Figg. 6-7-8); non mancano i macrofagi contenenti materiale fagocitato e cellule giganti (Figg. 9-10-11). Tra le cellule infiammatorie risalta la presenza ubiquitaria, extra ed intracellulare, di materiale corpuscolato. L'alto potere risolutivo offerto dalla microscopia elettronica a trasmissione permette di definire l'interessamento cellulare. Il citoplasma delle cellule appare infatti occupato per quasi totale estensione da granuli o corpuscoli più o meno elettrondensi: il quadro di un coinvolgimento patologico irreversibile della cellula (Figg. 12-13).

Reazioni produttive e granulomatoze più intense, con la presenza di numerosi elementi da corpo estraneo e frammenti di materiale, si possono riscontrare anche in preparati, a distanza di 90 giorni dall'innesto, riferibili al cemento G (Figg. 14-15). Si evidenziano inoltre numerose aree di colliquazione necrotica (Figg. 16-17).

Anche in questo caso, al MET, la degenerazione cellulare costituisce un aspetto di allarmante consuetudine. Appaiono interessati dall'invasione del materiale il reticolo endoplasmatico, il citosol, i mitocondri, molti dei quali con fenomeni degenerativi irreversibili.

Prove in vitro

I materiali sottoposti al test dell'emolisi su emazie di coniglio, hanno fornito tutti una percentuale di emolisi compresa tra lo 0,3 e l'1,13%.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Prima di commentare i risultati ottenuti e da questi trarre precise indicazioni, è opportuno esporre alcune considerazioni sulla

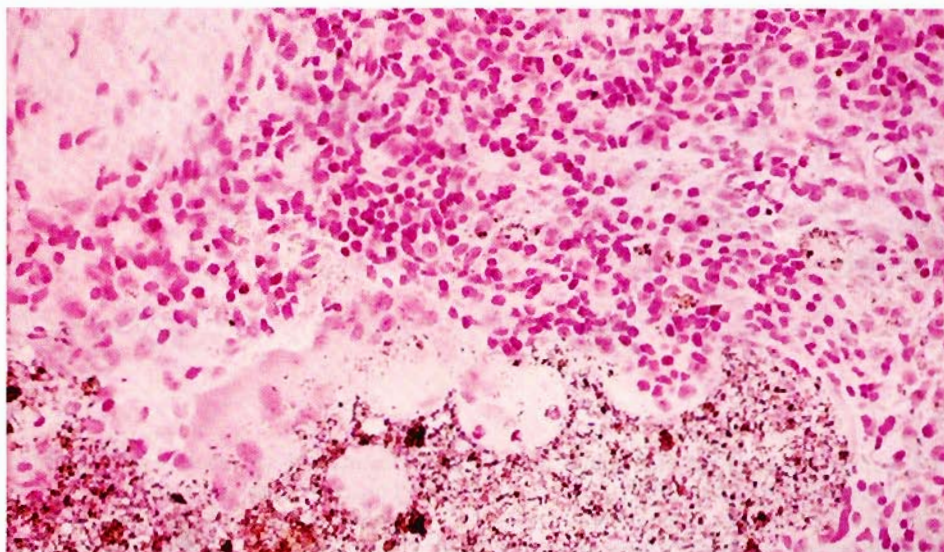


Fig 9 - Campione L: 90° giorno. Infiltrato parvicellulare, macrofagi, cellule giganti (E.E. 200x).

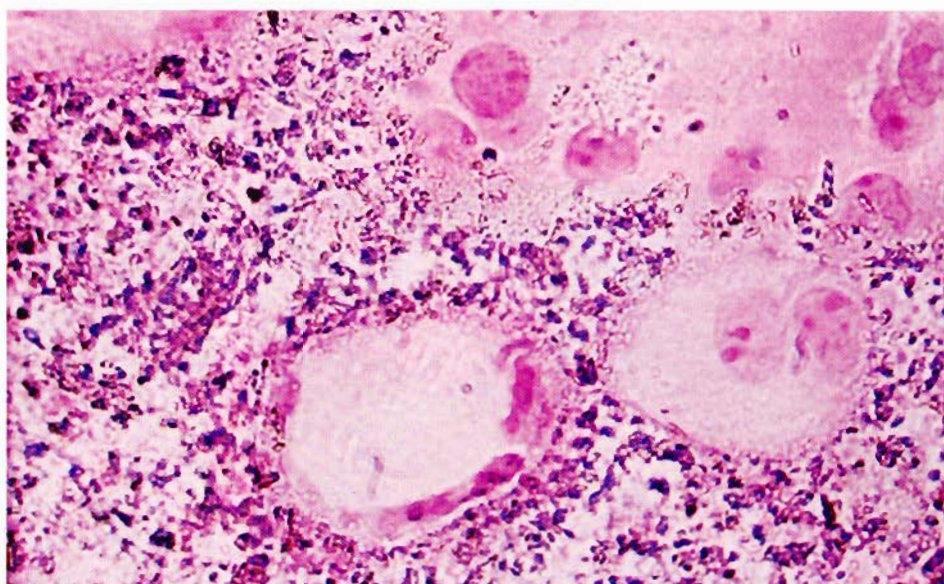


Fig. 10 - Campione L: 90° giorno. Macrofagi con materiale fagocitato e

frammenti di materiale in sede extracellulare (E.E. 200x).

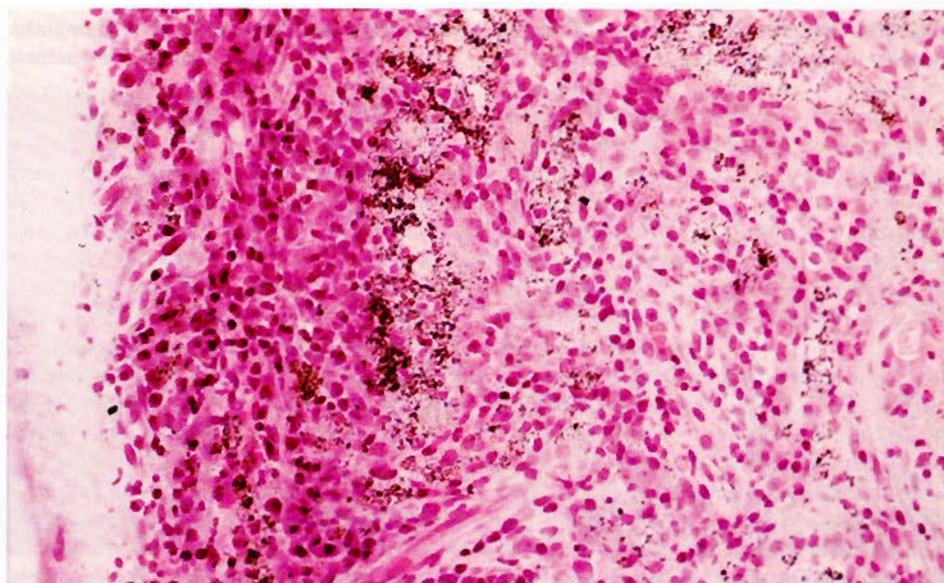


Fig. 11 - Campione L: 90° giorno. Presenza di infiltrato parvicellulare, macrofagi con

materiale fagocitato e cellule giganti (E.E. 200x).

metodologia usata per la valutazione della biocompatibilità dei materiali.

Alla luce delle indicazioni provenienti dai risultati di numerose indagini ottenute dai laboratori di vari Paesi, i test adeguati ad una valutazione biologica della tossicità dei materiali dentali dovrebbero essere compresi in tre grandi gruppi metodologici che nella sperimentazione pre-clinica dovrebbero succedersi in un ordine temporale preciso (9, 10, 11, 12). I materiali dentali con componenti primari non mutageni o cancerogeni (l'acertamento della mutagenicità delle compo-

nenti primarie deve essere effettuato dalle Case Farmaceutiche ancor prima dello studio e della realizzazione del materiale stesso) dovrebbero essere "ricostruiti" secondo le istruzioni fornite dalla Ditta produttrice e saggianti per la citotossicità *in vitro* (test appartenenti al 1° gruppo), per la tossicità *in vivo* (test del 2° gruppo) e per la tossicità su tessuti specifici (test del 3° gruppo).

I test del 1° e 2° gruppo, a nostro avviso, dovrebbero essere effettuati obbligatoriamente su tutti i materiali dentali prima della sperimentazione clinica degli stessi. I test

del 3° gruppo dovrebbero venir effettuati solo in alcuni casi specifici e per materiali particolari.

Ad una breve rassegna i test del 1° e 2° gruppo possono essere schematicamente illustrati come segue:

Test del 1° gruppo

a) Test di citotossicità su colture cellulari di cellule HeLa premarcate con Cr⁵¹. In questo test, il rilascio di Cr⁵¹ dalle cellule nei liquidi di coltura rappresenta un indice del danno cellulare eventualmente provocato dal

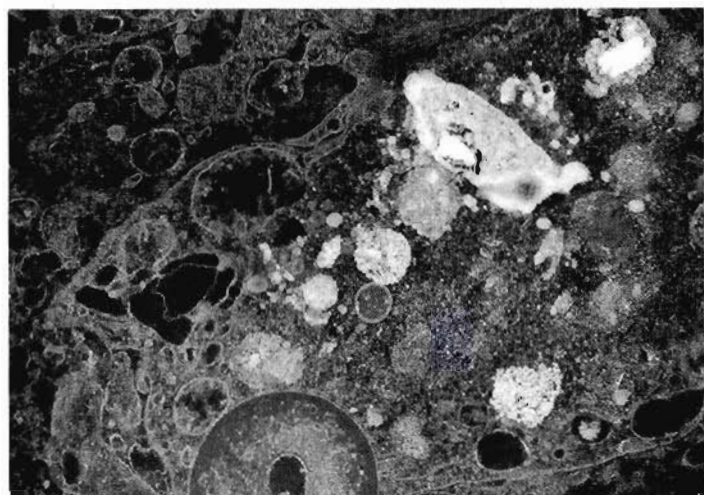


Fig. 12 - Campione L: 90° giorno. Macrofagi contenenti granuli di cemento elettrocondensanti (M.E.T. 20.000x).

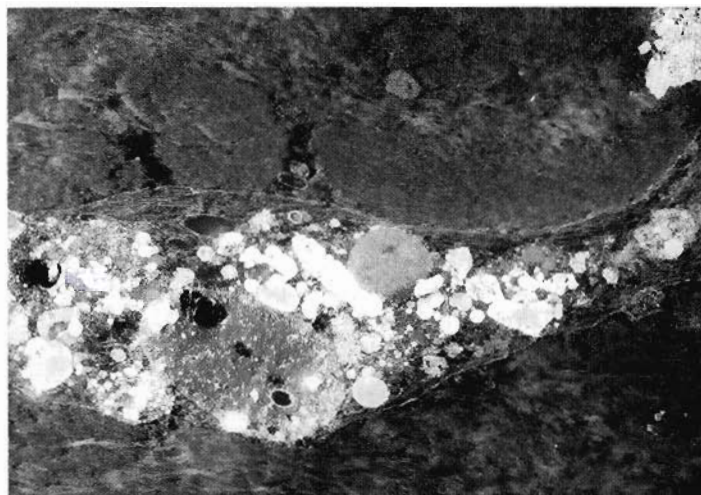


Fig. 13 - Campione L: 90° giorno. Materiale marcatamente elettrocondensante all'interno di un macrofago (M.E.T. 30.000x).

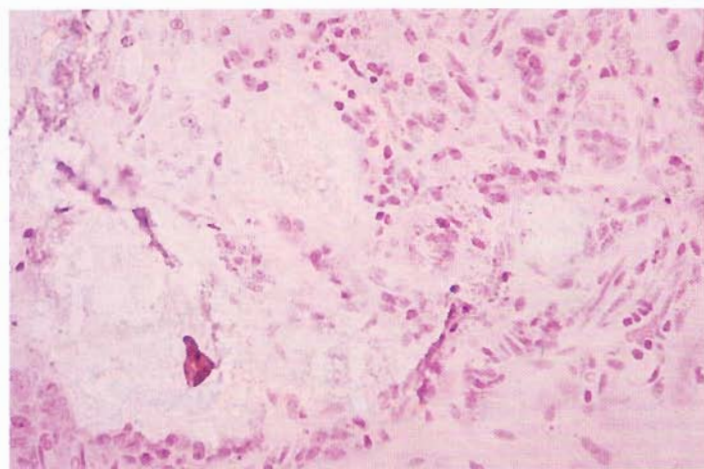


Fig. 14 - Campione G: 90° giorno. Reazione infiammatoria istogena. Frammenti di materiale e cellule da corpo estraneo (E.E. 250x).

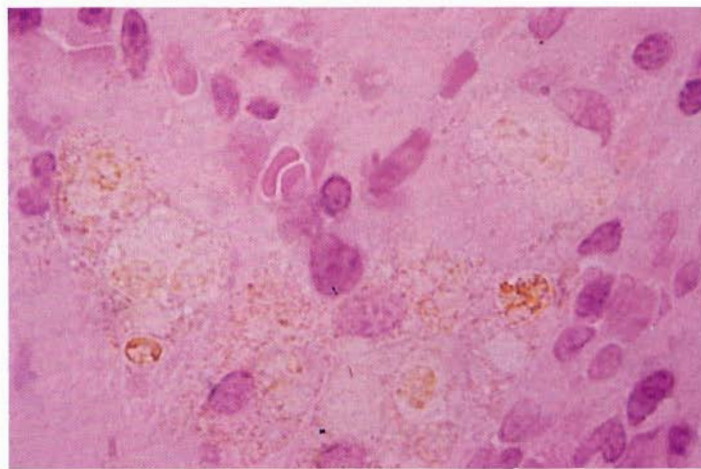


Fig. 15 - Campione G: 90° giorno. Frammenti di materiale circondato da cellule da corpo estraneo (E.E. 1000x).

composto.

In sintesi, questo test viene eseguito marcando opportunamente le cellule con Cr^{51} per 24 ore e cimentandole poi con i diversi materiali. Successivamente, il Cr^{51} rilasciato nel mezzo di coltura viene misurato su aliquote del campione opportunamente centrifugate, per mezzo di uno scintillatore in fase liquida.

Questo test ha il vantaggio di essere molto sensibile; presenta tuttavia l'inconveniente dell'uso di isotopi radioattivi.

b) Tecnica del "Tissue Culture Agar Overlay test". È una delle moderne tecniche per la valutazione biologica dei materiali, consigliata dalla F.D.I. con lo scopo di ricercare direttamente la presenza di sostanze tossiche contenute in materiali solidi.

Questo test non impiega sostanze radioattive e nonostante sia meno sensibile di quello con il Cr^{51} , dà risultati strettamente analoghi.

c) Test di emolisi su emazie di coniglio. Questo test, se pur meno sofisticato dei primi due, presenta il vantaggio di essere ripetibile, quantificabile e di semplice esecuzione, perché non prevede l'impiego di cellule in coltura.

Test del 2° gruppo

Tra i test del 2° gruppo, il più usato e forse il più sicuro è quello dell'impianto sottocutaneo nel ratto dei materiali da esaminare (13, 14, 15, 16).

L'impianto di materiali nel tessuto sottocutaneo dell'animale da esperimento, costituisce una metodologia tra le più indicate, specie (ma non solo) per i materiali di uso endodontico destinati per gli incappucciamenti diretti della polpa.

In generale, per questi test *in vivo*, possiamo dire che ripropongono le condizioni reali di lavoro, cioè vale a dire il contatto dei materiali stessi con i tessuti connettivi.

Per quanto riguarda i risultati da noi ottenuti dai test di biocompatibilità *in vitro* ed *in vivo*, possiamo fare le seguenti considerazioni:

Prove *in vivo*

Una prima ed immediata considerazione di ordine generale non può non accentrarsi sulla estrema variabilità della risposta tissu-

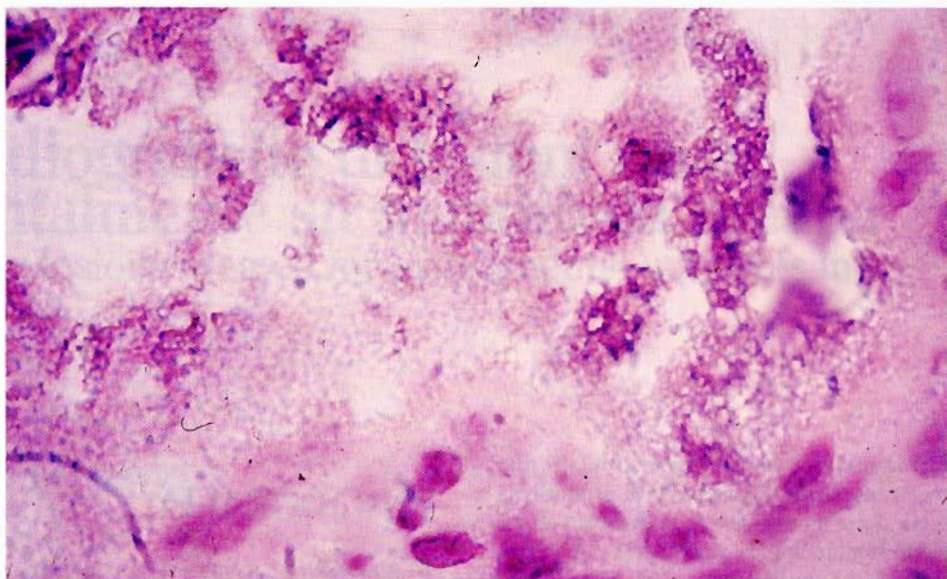


Fig. 16 - Campione G: 90° giorno. Aree di colliquazione necrotica (E.E. 1000x).

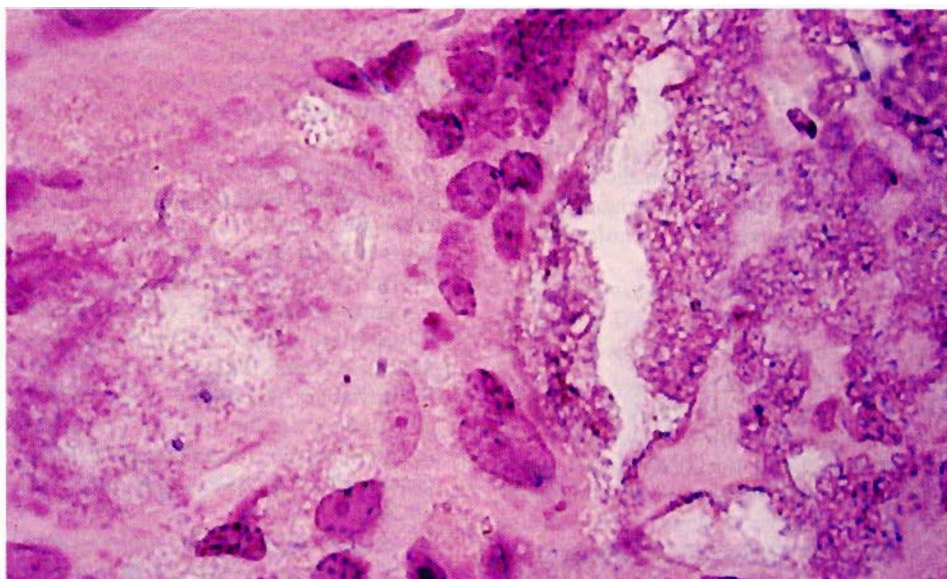


Fig. 17 - Campione G: 90° giorno. Aree di colliquazione necrotica con fenomeni degenerativi a carico delle cellule circostanti (E.E. 1000x).

tale ai differenti cementi o composti.

Assumendo come costanti la concentrazione ed il volume del materiale impiegato, la modalità di deposizione del materiale, il tempo di contatto di questo con il tessuto, le caratteristiche istologiche della sede e la risposta individuale, siamo autorizzati a pensare che non tutti i cementi inducano reazioni tissutali simili.

E ciò in perfetta concordanza con nostre precedenti ricerche (Perrini N., Fonzi L.). L'evidenza di una certa gradualità nella gravità della risposta lascia pensare inoltre ad un modulato, oltre che differente, interessamento delle cellule di difesa del nostro organismo.

I risultati ottenuti indicano che:

1) I tubicini contenenti i Campioni F ed H non hanno dato luogo ad apprezzabili reazioni tissutali evidenziate dopo 30 e 90 giorni di trattamento.

2) Le reazioni tissutali più intense (caratte-

rizzate dalla presenza di elementi infiammatori tipo cellule giganti da corpo estraneo, macrofagi, mononucleati) sono state osservate per i Campioni G, L.

Tali reazioni, già evidenziabili al 30° giorno, sono risultate più intense al 90° giorno dall'innesto.

La differente risposta tissutale osservata *in vivo* per i diversi materiali esaminati, potrebbe essere vista come una reazione flogistica in un certo modo volta ad eliminare il materiale "estraneo".

La persistenza di depositi di materiale corpuscolato, presente al 90° giorno dall'innesto, in varia misura nei differenti gruppi, induce a pensare che tali sostanze possano essere lentamente eliminate dal tessuto o che, in assenza di necrosi, le reazioni flogistiche osservate per i diversi materiali siano destinate a restare confinate localmente ed andare incontro ad un lento processo di riparazione.

I granulomi da corpo estraneo infatti non mostrano segni di necrosi o di produttività e ciò porta a considerare la mancata attivazione immunologica, linfocitaria e macrofagica. Ma l'analisi dei nostri reperti non lascia dubbi, per la gravità di alcuni quadri, circa l'interessamento dei componenti solubili e cellulari della infiammazione e quindi di un coinvolgimento ben preciso del sistema immunitario.

A conclusione, ci sembra opportuno, se non proporre un inquadramento paradigmatico dei vari cementi in gruppi di presunta biocompatibilità o accertata non biocompatibilità, sottolineare che alcuni cementi possiedono un grado accettabile e confortante di biocompatibilità.

Fra questi ci sembra opportuno menzionare il campione H (BIOSEAL, Onga Farmaceutici) quale cemento con le migliori caratteristiche biologiche sotto il profilo della compatibilità tissutale. L'assenza di emolisi nei test *in vitro* e l'assoluta negatività di pur minimi aspetti di flogosi tissutale nei test *in vivo* ci appaiono, per la rigorosità metodologica da noi osservata, come garanti di una accettabilissima biocompatibilità anche in termini di effetti sistemici.

Sebbene si sia abituati a non considerare la reattività biologica ad un materiale dentale come processo infiammatorio locale, sarebbe invece opportuno realizzare concettualmente, che qualsiasi materiale in contatto con un tessuto, specie se mortificato da un processo infiammatorio, potrebbe innescare dannosi effetti sistemici.

Un dato confortante, per le risposte fornite, ci viene anche dalla guttaperca e da un composto, il Biovetro.

BIBLIOGRAFIA

- 1 - Autian A. Toxicological evaluation of biomaterials. Primary acute toxicity screening program. *Artif Organs* 1977; 1: 53
- 2 - Fédération Dentaire Internationale FDI Technical Report 9. Recommended standards for the biological evaluation of dental materials. *Int Dent J* 1981; 30: 140
- 3 - Dowden WE, Langeland K. An evaluation and comparison of the pulpal response to gold foil and indium alloy. *J Prosthet Dent* 1983; 50: 497-504
- 4 - Horsted P, El Attar K, Langeland K. Capping monkey pulps with Dycal and Ca-eugenol cement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1981; 52: 531
- 5 - Kawahara H, Shiota J et Yamakawa Y. Studies on the effects of dental metals upon the mesenchymal cells in tissue culture. *J Osaka Odont* 1955; Soc 18: 343
- 6 - Spangberg L. Biologic effect canal filling materials 7. Reaction of bony tissue to implanted root canal filling materials in guinea pigs. *Odont Rev Suppl* 1969; 16, 20: 501
- 7 - Perrini N, Fonzi L. Reazioni sottocutanee di biocompatibilità all'innesto di alcuni cementi endodontici. *R I S* 1987; 9: 33-44
- 8 - Wannberg A, Hasselgren G, Tronstad L. A method for toxicity screening of biomaterial using cells cultured on millipore filters. *J Biomed Mater Res* 1979; 13: 109
- 9 - American National Standard Association American Dental Association. ANSI/ADA Document 41. *J Am Dent Assoc* 1982; 104: 680
- 10 - Langeland K, Langeland LK. Problems of intradental testing of restorative materials. *Int Endod J* 1981; 14: 80
- 11 - Us Congress (Senate). Medical Device Amendments of 1976; Public Law 94-295, 94th Congress, S 510. Us Government Printing Office, Washington DC
- 12 - Holz J, Fiore-Donno G et Baume LJ. Controles biologiques des matériaux d'obturation. Normalisation des méthodes expérimentales et des critères d'évaluation. *Rev Mens. Suisse Odonto-stomatol* 1968; 78: 307-351
- 13 - Langeland K, Walton R. Sargenti (N2) technique. In: Chark J ed. 1983. *Clinical Dentistry* 1983; Vol. 4, Chap. 13. Lippincott, Philadelphia, Pennsylvania. 1-13
- 14 - Safavi KE, Pascon EA, Langeland K. Evaluation of tissue reaction to endodontic materials. *J Endod* 1983; 9: 421-429
- 15 - Langeland K, Spangberg L. Methodology and criteria in evaluation of dental endosseous implants. *J Dent Res Special Issue* 1965; B, 54: 158
- 16 - Langeland K, Olsson B et Pascon EA. Biologic evaluation of Hydron. *J Endod* 1981; 7: 196