

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA - MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO : CLÍNICA INTEGRADA**

CAMILA MAGGI MAIA SILVEIRA

**AVALIAÇÃO DA BIOCOMPATIBILIDADE DE 4 CIMENTOS ENDODÔNTICOS:
ESTUDO EM TECIDO CONJUNTIVO SUBCUTÂNEO DE RATOS**

**PONTA GROSSA
2008**

CAMILA MAGGI MAIA SILVEIRA

**AVALIAÇÃO DA BIOCOMPATIBILIDADE DE 4 CIMENTOS ENDODÔNTICOS:
ESTUDO EM TECIDO CONJUNTIVO SUBCUTÂNEO DE RATOS**

Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, no curso de Mestrado em Odontologia – Área de concentração em Clínica Integrada.

Orientador: Prof. Dr. Gibson Luiz Pilatti.

**PONTA GROSSA
2008**

Ficha catalográfica elaborada pelo Setor de Processos Técnicos BICEN/UEPG

S587a Silveira, Camila Maggi Maia
 Avaliação da biocompatibilidade de 4 cimentos endodônticos:
 estudo em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos / Camila Maggi
 Maia Silveira. Ponta Grossa, 2008.

81 f.

Dissertação (Mestrado em Odontologia). Universidade
Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Gibson Luiz Pilatti

1. Biocompatibilidade. 2. Cimentos endodônticos . 3.
Implantação. 4. Inflamação. I. Pilatti, Gibson Luiz. II.
Universidade Estadual de Ponta Grossa. Mestrado em
Odontologia. III. T.

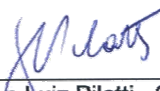
CDD: 617.634

CAMILA MAGGI MAIA SILVEIRA

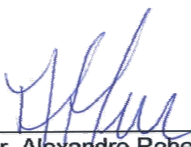
**AVALIAÇÃO DA BIOCOMPATIBILIDADE DE 4 CIMENTOS ENDODÔNTICOS:
ESTUDO EM TECIDO CONJUNTIVO SUBCUTÂNEO DE RATOS**

Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, no Curso de Mestrado em Odontologia – Área de concentração em Clínica Integrada.

Ponta Grossa, 27 de fevereiro de 2008.



Prof. Dr. Gibson Luiz Pilatti– Orientador
Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG



Prof. Dr. Alexandre Roberto Heck
Universidade Federal do Paraná
Membro da Banca



Prof. Dr. Fábio André dos Santos
Universidade Estadual de Ponta Grossa
Membro da Banca

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Ponta Grossa, na pessoa do seu reitor **Professor Dr. João Carlos Gomes** e vice-reitor, pela oportunidade e incentivo.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES)** do Ministério da Educação e Cultura, pelo apoio financeiro para a realização deste Mestrado.

Ao Prof. **Carlos Roberto Berger** exemplo maior do que é ser um mestre, nunca limitando esforços para o aprimoramento de todos que o buscam.

Ao meu orientador **Professor Dr. Gibson Luiz Pilatti** agradeço pela orientação, oportunidade e colaboração de realizar este trabalho.

À coordenadora do mestrado **Professora Dra. Osnara Mongruel Gomes** agradeço por estar sempre disposta a nos ajudar e proporcionar melhorias ao mestrado.

Ao **Professor Dr. Fábio André dos Santos** pela paciência, dedicação e empenho no ensinamento dos passos laboratoriais executados neste trabalho.

À **Professora Dra. Rosário de Arruda Moura Zedebski**, agradeço pelas sugestões no momento da qualificação e por toda dedicação durante a elaboração e conclusão deste trabalho. Pela fundamental análise histopatológica e por ter sua indispensável demonstração de amizade. Seu apoio foi fundamental para a realização deste trabalho.

Ao **Professor Dr. Antônio Edgar Kröeling** por ter colaborado no desenvolvimento dessa dissertação, estando sempre disposto a orientar e ensinar.

Ao **Dr. Mário Rodrigues Montemor Netto** por disponibilizar o Laboratório para o processamento de todo material histológico desse trabalho. Agradeço a atenção e compreensão durante as muitas vezes que precisei da sua ajuda.

Ao técnico **Alexandre** (Laboratório de Patologia Médica) agradeço pela atenção, dedicação e pelo excelente trabalho técnico no processamento das lâminas. Sua participação foi fundamental para concretização deste trabalho.

Ao **Professor Dr. Ulisses Xavier da Silva Neto** por aceitar o convite de participar como suplente na defesa deste trabalho.

A **todos os Professores Doutores** do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Odontologia – Mestrado, pelos conhecimentos transmitidos, pela amizade e pela grande disposição em colaborar.

À bibliotecária **Maria Luzia** pela atenção e disposição em ajudar nas correções da dissertação e à **Ivaní** por estar sempre pronta no auxílio de busca de artigos.

À minha amiga **Shelon Cristina Souza Pinto** por sua colaboração imprescindível na realização da fase experimental deste trabalho.

Aos **funcionários e técnicos da UEPG** pelo apoio e amizade durante os anos de pós-graduação.

À **Morgana das Graças Procz dos Santos**, por toda atenção dispensada e carinho.

Aos **colegas do mestrado** Beatriz Elena, Cristian Higashi, Christiana Grande, Eugenio Garcia, Roberto Amaral, Rodrigo Stanislawzuk, Wilmer Sepúlveda, Ana Paula Franco, Ana Paula Teitelbaum, Chigueyuki, Eloísa de Paula, Manoela, Michele, que deixarão muita saudade pelos ótimos momentos que passamos juntos.

Aos **meus amigos do mestrado** **Alfonso** Sánchez Ayala, **Shelon** Cristina Souza Pinto, **Sérgio Paulo** Hilgenberg, **Gislaine** Cristine Martins pela fundamental ajuda e paciência em tudo que me ensinaram.

Dr. Jimenez pela sua experiência profissional e pessoal, que sempre me ajudou em momentos difíceis.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse estudo.

À minha querida **mãe**, que sempre me incentivou e apoiou nos momentos mais difíceis. Mesmo quando não pode me orientar em certos caminhos, soube valorizar minhas vontades e prioridades.

Ao meu querido **pai** (in memoriam), por toda dedicação e esforço para proporcionar meus estudos, e toda vibração em cada conquista.

Ao meu marido **Emanuel** que sempre me incentivou, deu apoio para que eu pudesse realizar meus sonhos, soube compreender as dificuldades e teve muita paciência.

Bernardo e Laura vocês são minhas maiores alegrias. Obrigada pela paciência e compreensão por minha ausência, muitas vezes em momentos muito importantes. Sem o apoio de vocês não conseguiria vencer mais esta conquista.

Aos meus **irmãos Orlando e Giovanna**, por me apoiarem sempre em minhas decisões, por compreenderem minha ausência em muitos momentos.

Aos meus tios **Silvana e Willy** pelo grande incentivo, consideração e participação que sempre tiveram em minha vida.

À minha cunhada **Cynthia**, pela amizade e por estar sempre presente em momentos marcantes da minha vida.

A **Deus** por proporcionar tantas conquistas e por colocar todas essas pessoas em meu caminho. Agradeço por Ele estar presente, proporcionando muita força de vontade e a transformação de sonhos em realidade.

DADOS CURRICULARES

Camila Maggi Maia Silveira

NASCIMENTO 12.09.1970	Ponta Grossa - PR
FILIAÇÃO	João José Pinto Maia Regina Márcia Maggi Maia
1989 - 1993	Curso de Graduação Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) – Ponta Grossa - PR
1993	Curso de Aperfeiçoamento em Dentística Restauradora
1993 - 1995	Curso de Especialização em Endodontia –ABO – Curitiba - PR
2002	Aperfeiçoamento em Estética e Cosmética em Odontologia
2006/2008	Curso de Pós-graduação em Odontologia Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG, nível de Mestrado em Odontologia – Área de Concentração em Clínica Integrada
2007/2009	Professora dos cursos de Pós – Graduação em Endodontia da Escola de Aperfeiçoamento Profissional da Associação Brasileira de Odontologia- Regional de Ponta Grossa

Silveira CMM. Avaliação da biocompatibilidade de 4 cimentos endodônticos: estudo no tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. [Dissertação Mestrado em Clínica Integrada – Faculdade de Odontologia] Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa;2008.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a biocompatibilidade de quatro cimentos endodônticos: Epiphany, AH Plus, Pulp Canal Sealer EWT e Sealapex. Tubos de polietileno contendo os materiais prontamente manipulados foram introduzidos no tecido conjuntivo subcutâneo de 60 ratos. Os animais foram divididos em 4 grupos. Após anestesia, tricotomia, desinfecção, incisão e divulsão tecidual, cada animal recebeu dois implantes contralaterais: um implante contendo o material e um controle (tubo vazio). Após os períodos de sete, 15 e 30 dias os implantes foram removidos com margem de tecido e fixados em solução de formol a 10% por 48 horas. Após a fixação das amostras, procedeu-se a remoção dos tubos, inclusão em blocos de parafina e cortes seriados de 4µm, que foram corados com Hematoxilina e Eosina e examinados por microscopia óptica de luz comum. A análise descritiva das lâminas foi realizada por um Patologista, que desconhecia a que grupo e período experimental as lâminas pertenciam, seguindo os seguintes critérios; A) Espessura da cápsula: delgada, intermediária ou espessa; B) Constituição do tecido conjuntivo: fibroso ou frouxo; presença de necrose; feixes vâsculo-nervosos; eventos vasculares; C) Severidade do infiltrado inflamatório: discreto, moderado ou intenso; D) Presença de células gigantes multinucleadas inflamatórias (CGMI). Os resultados mostraram que depois de sete dias todos os cimentos apresentaram uma resposta inflamatória de moderada a intensa e o Sealapex mostrou-se com resposta inflamatória discreta. Com 15 dias os cimentos Epiphany e AH Plus apresentaram resposta moderada; para o Pulp Canal Sealer EWT a resposta foi severa e o Sealapex manteve-se com infiltrado inflamatório discreto. No final do período de avaliação, 30 dias, as reações teciduais apresentaram-se discretas para os cimentos AH Plus, Epiphany, Sealapex e moderada para o Pulp Canal Sealer EWT. Os resultados deste estudo revelaram que o cimento Sealapex foi o que apresentou menor resposta inflamatória em todos os períodos, ainda que todos os cimentos tenham demonstrado compatibilidade biológica aceitável. Contudo mais experimentos serão necessários para o total conhecimento do comportamento clínico dos cimentos em dentes submetidos a terapia endodôntica.

Palavras-chave: Biocompatibilidade. Cimentos endodônticos. Implantação. Inflamação.

Silveira CMM. Analysis of the biocompatibility of four endodontic sealers: study in the subcutaneous connective tissue of rats. [Dissertação Mestrado em Clínica Integrada – Faculdade de Odontologia]. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa 2008.

ABSTRACT

The purpose of this study was evaluate the biocompatibility of four root canal sealers, Epiphany, AH Plus, Pulp Canal Sealer, Sealapex. Sterile polyethylene tubes containing freshly mixed test materials were inserted into the connective tissues of the sixty rats. The animals were divided into four groups. After anesthesia, the dorsal skin was shaved, disinfected, incisioned and two pocket were carefully prepared by blunt dissection and each animal received two implantations in opposite sides, one containing the material and another as control (empty polyethylene tube). After periods of 7, 15 and 30 days, the implants were removed with the surrounding tissue and immersed in 10% formalin solution for 48 hours. After fixing the tissue it was processed for paraffin embedding which were cut in serial sections with the microtome set at 4 μ m, stained with hematoxylin and eosin and assessed by light microscopy. The descriptive analysis was conducted by a pathologist who was blinded to which group and experimental period the glass slides pertained to, following the criteria: A) the thickness of the fibrous capsule: thin, intermediate or thick; B) Connective tissue composition: fibrous or loose, necrosis, nerve, blood vessels; C) the severity of the inflammatory reaction: mild, moderate, severe; D) presence of giant cells. The results revealed that after a period of 7 days all the sealers induced moderate-to-severe inflammatory reaction and Sealapex presented mild inflammatory reaction. At the 15-day, Epiphany and AH Plus sealers conducted to moderate inflammatory reaction, Pulp Canal Sealer severe inflammatory reaction, and Sealapex had the same intensity. After 30 days of the implantation of the sealers, mild inflammatory reactions were observed for the Epiphany, AH Plus and Sealapex, and moderate inflammatory reaction for the Pulp Canal Sealer. The results of this study revealed that Sealapex presented lowest level of inflammatory reaction in all the observed periods, yet all the sealers induced acceptable biological compatibility. More extensive experiments will be necessary to fully predict the clinical behavior of the sealers in patients undergoing endodontic therapy.

Keywords: Biocompatibility. Root canal sealers. Implantation. Inflammation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Esquema1	- Representação esquemática da distribuição dos grupos e tempos experimentais.....	36
Figura 1	- Seqüência de procedimentos operatórios.....	41
Figura 2	- Seqüência de preparo dos tubos de polietileno	42
Figura 3	- Seqüência de procedimentos operatórios para posterior processamento laboratorial.....	43
Figura 4	- Aspectos microscópicos observados no grupo experimental Epiphany.....	47
Figura 5	- Aspectos microscópicos observados no grupo experimental AH Plus.....	48
Figura 6	- Aspectos microscópicos observados no grupo experimental Pulp Canal Sealer..	49
Figura 7	- Aspectos microscópicos observados no grupo experimental Sealapex.....	50
Figura 8	- Aspectos microscópicos observados no grupo Controle.....	51
Figura 9	- Aspectos microscópicos particulares observados.....	52
Figura 10	- Aspectos microscópicos demonstrativos das análises.....	53
Gráfico 1	- Representação gráfica da intensidade do infiltrado inflamatório, observados nos três tempos de análise para todos os cimentos...	54
Gráfico 2	- Representação gráfica da espessura das cápsulas fibrosas observadas nos três tempos de análise para todos os cimentos...	54
Quadro 1	- Composição química dos cimentos endodônticos.....	36
Tabela 1	- Modelo idealizado para registro dos dados obtidos a partir da avaliação microscópicas dos espécimes.....	40
Tabela 2	- Espessura da cápsula fibrosa.....	46
Tabela 3	- Severidade da resposta inflamatória.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

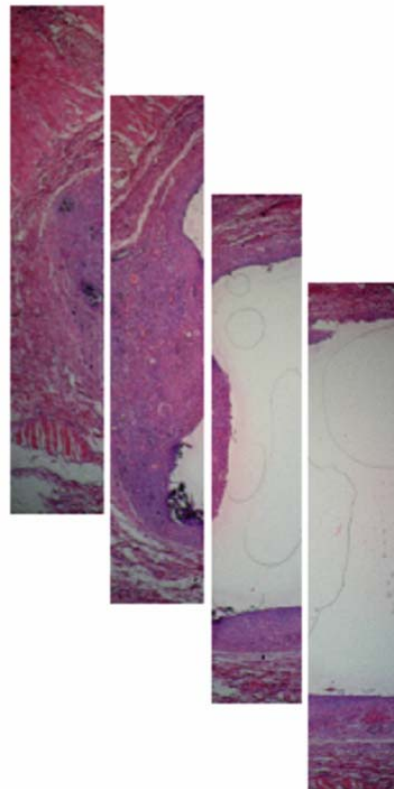
pH	- Índice hidrogeniônico
g	- grama
nº	- número
mL	- mililitro
mg	- miligrama
%	- porcentagem
µm	- micrômetro
°C	- graus Celsius
H.E	- Hematoxilina e eosina
CRCS	- Calcibiotic Root Canal Sealer
GC	- Cimento de Grossman
GMA	- glicolmetacrilato
CAPSEAL	- Cimento à base de fosfato de cálcio
ARS	- Cimento de apatita
ER	- Cimento EndoRez
BDF	- Trabecular bone density formation
EWT	- Extended Work Time
FDA	- Federation Dentaire American
ADA	- American Dental Association
PMN	- Polimorfonucleares
CGMIs	- Células gigantes multinucleadas inflamatórias

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
3	PROPOSIÇÃO.....	32
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	34
5	RESULTADOS.....	44
5.1	ANÁLISE MICROSCÓPICA DESCRITIVA.....	45
5.1.1	PERÍODO EXPERIMENTAL DE 7 DIAS.....	45
5.1.2	PERÍODO EXPERIMENTAL DE 15 DIAS.....	46
5.1.3	PERÍODO EXPERIMENTAL DE 30 DIAS.....	46
6	DISCUSSÃO.....	56
6.1	CONCEPÇÃO	57
6.2	METODOLOGIA	57
6.3	RESULTADOS.....	60
6.4	PERSPECTIVAS.....	65
7	CONCLUSÃO.....	66
	REFERÊNCIAS.....	68
	APÊNDICES A1 – A13 Resultados originais da análise histopatológica	74

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO



1 INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico consiste de várias fases operatórias, como abertura, preparo biomecânico, irrigação e obturação. Todas essas fases são igualmente importantes para que se obtenha o sucesso da terapia endodôntica. Na obturação dos canais radiculares objetiva-se o seu completo preenchimento com material que apresente adequadas propriedades físico-químicas (escoamento, espessura, tempo de presa, radiopacidade, insolubilidade, desintegração, estabilidade dimensional, pH próximo da neutralidade, adesividade e termoplasticidade) e biológicas (selamento apical, infiltração marginal, biocompatibilidade e atividade antimicrobiana), possibilitando ou até mesmo estimulando o processo de reparo apical e periapical (Carvalho Junior¹ 2002, Tanomaru et al.²2006).

A terapia endodôntica será julgada pela qualidade da obturação, mesmo porque, essa etapa tem uma qualidade dependente dos procedimentos que a antecedem. Assim, se não for realizado um acesso adequado, não haverá um bom preparo do canal e, sem ele, não haverá boa obturação. A boa qualidade da obturação, portanto, indica até certo ponto, que as etapas do tratamento endodôntico foram bem realizadas.

A obturação dos canais radiculares devem ser realizadas com materiais biocompatíveis com os tecidos periapicais. O objetivo biológico almejado na terapia endodôntica é que se no momento do término do tratamento não houver lesão periapical, que aquela região assim permaneça e havendo lesão periapical, que ela possa apresentar o processo de reparo, com a sua regressão, voltando essa região a apresentar integridade tecidual. A escolha de materiais obturadores desempenha uma atividade importante para alcançar esse propósito, representando, portanto, uma etapa importante no tratamento endodôntico.

. O cimento endodôntico associado aos cones de guta percha ou cones resinosos são de fundamental importância para o selamento do canal radicular pois ficam em contato direto com o tecido conjuntivo apical e periapical, podendo causar reações teciduais e influenciar no sucesso ou insucesso da terapia endodôntica. Dentre os vários fatores que interferem na reação tecidual, favorável ou desfavoravelmente (Leonardo³ 2005, Silva et al.⁴ 1997, Kaplan et al.⁵ 2003), está a

composição química do material obturador. Por esse motivo muitas pesquisas à procura de um material obturador ideal, menos irritante possível, indutor de um selamento apical e biocompatível, são realizadas.

Há uma grande variedade de cimentos endodônticos disponíveis e clinicamente utilizados, como os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol, resinas plásticas, ionômero de vidro, hidróxido de cálcio, silicone.

Os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol amplamente utilizados nas últimas décadas, possuem boas propriedades físico-químicas, como impermeabilidade, constância de volume, adesão e pouca solubilidade, porém quanto à biocompatibilidade não apresentam-se favoráveis, com ausência de selamento biológico apical e manutenção de infiltrado inflamatório crônico, (Barbosa et al,⁶ 1993).

Os cimentos à base de resina devido à melhorias na tecnologia adesiva, reduzindo infiltração apical e coronária, promovendo boa adesividade às paredes do canal radicular, radiopacidade, comprovando suas excelentes propriedades físico-químicas e biológicas (Georgopoulou et al.⁷ 1995, Leonardo et al.⁸ 1997).

Os cimentos à base de hidróxido de cálcio são bastante utilizados por especialistas e pesquisadores (Mitchel, Shankwalker⁹ 1958, Zmener et al.¹⁰ 1988, Yesilsoy et al.¹¹ 1988, Economides et al.¹² 1995, Leonardo et al.¹³ 2007 Silva et al.⁴ 1997), foram idealizados para unir em um cimento obturador as boas propriedades biológicas do hidróxido de cálcio puro, com propriedades físico-químicas necessárias, e tem sido associado aos cimentos obturadores por ser uma substância que contribui para o reparo apical e periapical (Leonardo³ 2005).

Muitos métodos têm sido utilizados para avaliar a biocompatibilidade dos cimentos endodônticos, sendo que o mais utilizado é a implantação do material no tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. O exame histopatológico da resposta do tecido ao redor do implante é utilizado para avaliar o efeito irritativo do material obturador (Silva et al.⁴ 1997, Zmener et al.¹⁰ 1988, Economides et al.¹² 1995).

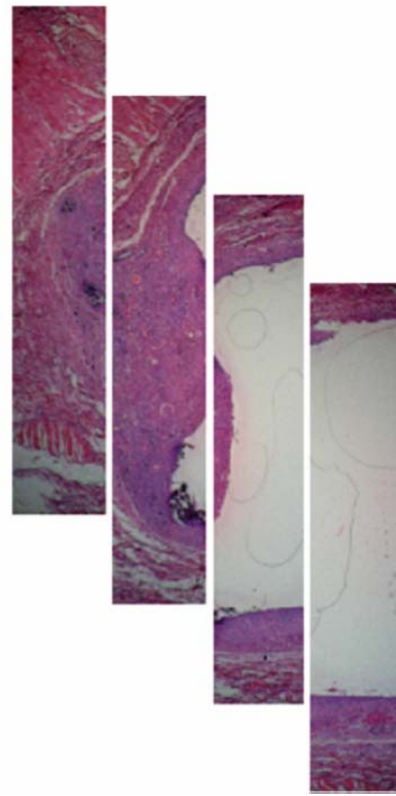
Elegemos o cimento Pulp Canal Sealer EWT, por ser um cimento à base de óxido de zinco e eugenol, amplamente utilizado como cimento de comparação; os cimentos resinosos AH Plus e Epiphany foram escolhidos por serem cimentos atuais e que estão em ampla fase de pesquisas e o cimento Sealapex, à base de hidróxido de cálcio, foi eleito por ter recebido recentemente uma alteração em sua composição química; que foi a substituição do sulfato de bário por trióxido de bismuto (Leonardo

et al.¹³ 2007), acreditando que o estudo da biocompatibilidade de cimentos obturadores com diferentes composições químicas permitirá, uma melhor compreensão às reações celulares durante o seu primeiro contato com os tecidos periapicais até o seu processo reparatório.

Revisão de Literatura

REVISÃO DE LITERATURA

REVISÃO DE LITERATURA



2. REVISÃO DE LITERATURA

Mitchel e Shankwalker⁹ (1958) analisaram a biocompatibilidade do hidróxido de cálcio misturado com água destilada através da implantação em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos, realizando a análise microscópica nos períodos de 2, 4, 12, 18, 26 e 35 dias. Inicialmente o resultado demonstrou a formação de uma zona de necrose e coagulação ao redor do material, após 4 dias, observou-se formação de cápsula densa com poucas células inflamatórias ao redor do implante com material. Nos demais períodos houve uma reação inflamatória moderada.

Holland et al.¹⁴ (1971) implantaram os seguintes materiais (óxido de zinco e eugenol, pyocidina com sulfa, composto de Wach, composto de Rickert, pasta Alfa Canal, cloropercha, pó e pasta de hidróxido de cálcio) no tecido subcutâneo de 128 ratos, com o objetivo de analisarem suas propriedades físicas e biológicas. Após o período experimental de 5, 10 e 30 dias realizaram a análise microscópica, que demonstrou que o composto de Rickert e hidróxido de cálcio tiveram bom comportamento biológico, no entanto o hidróxido de cálcio promoveu um melhor reparo nos tecidos periapicais, apresentando o mesmo comportamento em todos os tempos operatórios.

Crane et al.¹⁵ (1980) avaliaram cimentos com e sem eugenol. Estes cimentos foram introduzidos em tubos de polietileno, implantados e avaliados após 24, 48, 96 horas e 6 meses. Puderam observar que os cimentos que não apresentavam eugenol em sua composição química eram mais biocompatíveis.

Olsson et al.¹⁶ (1981) avaliaram a citotoxicidade dos cimentos Kerr Pulp Canal Sealer, AH 26, Kloropercha, e a eficácia do método de implantação de tubos de teflon contendo cimento no subcutâneo ratos como método para teste de biocompatibilidade. Os períodos de avaliação foram 14, 30, 90 e 180 dias e mostraram que todos os cimentos em todos os períodos experimentais mostraram-se irritantes, e que o método de implantação no subcutâneo de ratos é um método prático para avaliação qualitativa dos materiais e pode detalhar informações sobre reação material/tecido no nível celular.

Holland e Souza¹⁷ (1985) estudaram a biocompatibilidade dos cimentos Sealapex, Kerr Root Canal Sealer e hidróxido de cálcio com a água destilada, obturando 160 canais de 8 cães e 80 canais de 4 macacos, após terem realizado a pulpectomia parcial ou total e obturação dos dentes com os materiais citados. Os

resultados mostraram que houve fechamento apical pela deposição de cimento, na maioria dos canais obturados com Sealapex e hidróxido de cálcio. Nos casos onde houve extravasamento de material, notou-se diferentes graus de reação inflamatória com presença de macrófagos, sendo que o Sealapex foi facilmente absorvido ou estimulou a deposição de tecido duro nesta área.

Yesilsoy et al.¹¹ (1988) estudaram a resposta inflamatória e deposição de cálcio, após injeção de 0,1mL no subcutâneo de 12 porcos, dos seguintes materiais: cimento de Grossman, Eucapercha, Endo-Fill, CRCS, Sealapex e Hypocal, analisando microscopicamente após 6, 15 e 80 dias. Os autores encontraram menor reação inflamatória com os cimentos Sealapex e Endo-Fill. No período de 6 dias, houve presença de reação inflamatória severa para o cimento de Grossman, CRCS, Hypocal e Eucapercha, aos 15 dias para os cimentos Grossman, CRCS e Hypocal. Quanto à deposição de tecido duro, os cimentos CRCS e Sealapex mostraram-se superiores.

Zmener et al.¹⁰ (1988) compararam quantitativamente a resposta dos tecidos ao Sealapex e CRCS, quando implantados em tecido conjuntivo no subcutâneo de 30 ratos. Após os períodos de 7, 30 e 90 dias realizaram análise microscópica. Aos 7 dias a reação do tecido para o Sealapex e CRCS foi similar, tecido necrótico, presença de macrófagos, células gigantes de corpo estranho, linfócitos e leucócitos polimorfonucleares estavam presentes apenas em contato com CRCS. Em geral um fino tecido conjuntivo fibroso e poucas células inflamatórias foi observado em contato com o grupo controle. Aos 30 dias, diferença significativa entre a área de reação do Sealapex e CRCS, como entre estes dois e o controle. Na área em contato com o Sealapex, foi encontrado alguns fragmentos desse material, rodeado por tecido granulomatoso, macrófagos e células gigantes de corpo estranho contendo muitas partículas escuras. Em contato com CRCS a reação inflamatória diminuiu. Em contato com o controle, uma fina cápsula fibrosa contendo algumas células inflamatórias espalhadas. Aos 90 dias, os espécimes de Sealapex mostraram grande área de reação tecidual, macrófagos, células gigantes de corpo estranho com importante quantidade de material no final do tubo, onde os valores obtidos das mensurações do CRCS e controle foram nitidamente reduzidas. O acúmulo de células inflamatórias agudas que foram notadas nas áreas de contato com CRCS diminuíram quando o período de observação aumentou. Uma consistente cápsula fibrosa com presença de ocasionais linfócitos foi detectado em contato com o

controle. A severidade das reações diminuíram com o tempo e foram resolvidas aos 90 dias. Mais estudos serão necessários para extrapolar estes resultados para atual situação clínica.

Bergamini¹⁸ (1988) avaliou a biocompatibilidade dos cimentos Endomethasone, Fillcanal, Sealer 26 e Sealapex através da implantação de tubos de polietileno contendo estes cimentos em subcutâneo de camundongos. Os períodos de análise foram 7, 15, 30 e 60 dias. Todos os cimentos mostraram-se irritantes e as reações inflamatórias variaram conforme o cimento e período analisado. Sealer 26 e Sealapex foram os cimentos menos irritantes, Endomethasone apresentou resposta intermediária e o Fillcanal foi o mais irritante.

Mittal et al.¹⁹ (1995) conduziram este estudo para avaliar a resposta histológica de 4 cimentos endodônticos (óxido de zinco e eugenol, Tubli seal, Sealapex, Endoflas e solução salina (controle)). Utilizaram 15 ratos, que receberam 0,1mL dos 4 cimentos testes e controle no mesmo dia. Sacrificaram 3 animais em cada período de tempo: 48 horas, 7 dias, 14 dias, 1 mês, e 3 meses. As lâminas foram observadas por microscopia ótica, e os resultados mostraram em 48 horas para os cimentos de óxido zinco e eugenol, Tubli seal, Endoflas severa reação inflamatória, leucócitos polimorfonucleares, edema e necrose, moderada e média intensidade com Sealapex e controle respectivamente. Aos 7 dias: persiste resposta inflamatória severa, principalmente linfócitos e leucócitos polimorfonucleares, para óxido de zinco e eugenol, Tubli seal e Endoflas e suave para o Sealapex. Não foi encontrado inflamação no controle. Edema e necrose apenas quando do uso do óxido de zinco e eugenol. Aos 14 dias inflamação localizada de grau moderado para todos os cimentos, exceto Sealapex que foi suave, macrófago foi tipo celular predominante. Nenhum cimento proporcionou edema e necrose. Em 1 mês a inflamação persistiu para Tubli seal e Endoflas, porém foi suave para óxido de zinco e eugenol e Sealapex. Aos 3 meses não observaram inflamação para nenhum cimento, e observaram cápsula fibrosa bem formada. Todos os cimentos apresentaram-se bem tolerados.

Economides et al.¹² (1995) analisaram, in vivo, a biocompatibilidade de 4 cimentos endodônticos (CRCS, Sealapex, Roth 811, AH-26). Utilizaram 75 ratos, divididos em 5 grupos os quais foram avaliados nos períodos de 7, 14 e 21 dias. Para cada período experimental havia um grupo controle. Para a inserção dos cimentos utilizaram tubos de polietileno e para o controle tubos vazios. Resultados

das lesões microscópicas para o AH 26 mostraram-se severa aos 7 e 14 dias e moderada aos 21 dias; Roth 811 moderada/ severa aos 7, 14 e 21 dias; CRCS moderada aos 7 dias, moderada/severa aos 14 e 21 dias; Sealapex moderada/severa aos 7, 14 e 21 dias, para o grupo controle poucas reações foram observadas, com presença de macrófagos e poucas células plasmáticas próximas ao tecido conjuntivo fibroso.

Bilginer et al.²⁰ (1997) determinaram a biocompatibilidade e selamento apical de cimentos à base de α - fosfato de tricálcio (TCP) SA, tipol, tipoll e tipolll. No estudo da biocompatibilidade utilizaram 124 tubos de polietileno, os quais imediatamente após a manipulação, foram preenchidos pelos cimentos Tipo I, II, III e Cimento de Grossman (GC) e implantados no tecido conjuntivo de subcutâneo de 31 camundongos fêmeas brancas. Cada animal recebeu quatro implantes. Doze tubos vazios do mesmo tamanho foram implantados em 3 animais e utilizados como controle. As amostras foram avaliadas nos períodos de 24 horas, 7 e 30 dias. A análise histológica baseou-se em graus de inflamação, tipo de inflamação e espessura da cápsula fibrosa ao redor dos tubos. No período de 24 horas, a reação dos cimentos Tipo II e III e controle foi similar, com suave reação inflamatória aguda. No Tipo I houve resposta inflamatória suave/moderada e para GC reação inflamatória aguda moderada. Depois de 7 dias para o Tipo II e III encontraram resposta inflamatória suave/moderada com grande quantidade de leucócitos polimorfonucleares, linfócitos, macrófagos e células plasmáticas, algum tecido necrótico e macrófagos. Para o Tipo I e controle observou-se resposta inflamatória moderada. No grupo GC observaram resposta inflamatória moderada/severa. Cápsula fibrosa e fibroblastos jovens foram encontrados em todos estes materiais. Aos 30 dias o aspecto geral da resposta inflamatória foi menos intensa. Para os Tipos I, II e III resposta inflamatória suave/moderada, para o GC resposta inflamatória moderada, e grupo controle resposta inflamatória suave. Com relação à presença de cápsula fibrosa não houve diferença estatisticamente significativa entre os materiais testados.

Silva et al.⁴ (1997) avaliaram a resposta inflamatória do Sealapex, CRCS, Apexit e Sealer 26, em tecido subcutâneo e cavidade peritoneal de camundongos Balb/c. Depois da manipulação e tomada de presa dos cimentos, foram dissolvidos e injetados no subcutâneo dos animais. Cinco animais de cada grupo, foram selecionados de maneira randomizada e sacrificados nos períodos de 2, 4, 8 e 16

dias. O resultado da reação no estágio inicial foi que todos os cimentos apresentaram grande quantidade de leucócitos polimorfonucleares, sendo que inicialmente foi mais intenso ao CRCS e Apexit. Durante a fase intermediária houve uma nítida redução de número destas células polimorfonucleares, as quais foram mais observadas com o Sealapex seguido do CRCS, Apexit e Sealer 26. Nesta fase também houve um aumento de células mononucleares, variando com o cimento testado. Durante a fase final houve uma pequena presença de neutrófilos e intensa reação granulomatosa com predominância de células epitelióides e células gigantes multinucleadas. Os resultados com os animais onde injetaram as soluções contendo cimento, no período 6 e 24 horas, houve uma intensa migração de leucócitos polimorfonucleares em relação ao controle. Esta migração foi menos intensa com o Sealer 26 e Apexit. Nos períodos de 6 e 24 horas e 5 dias observaram um aumento do número de células mononucleares para todos os cimentos, porém aos 15 dias não houve diferença em relação ao grupo controle.

Görduysus et al.²¹ (1998) utilizaram 40 tubos de polietileno que foram preenchidos com o cimento Endo-Fill, e implantados no tecido conjuntivo no subcutâneo de ratos, para análise da resposta inflamatória tecidual e histopatológica deste cimento. Quatro tubos contendo cimento foram implantados em cada rato, e 4 tubos vazios foram implantados no subcutâneo de outros ratos separadamente e utilizados como controle. As amostras foram avaliadas nos períodos de 2, 7, 14, 28 e 56 dias respectivamente, utilizando microscopia ótica. Os resultados avaliados em 2 dias mostraram moderada infiltração inflamatória e exsudação no tecido. Presença de edema, fibrina, leucócitos eosinófilos. Proliferação fibroblástica e formação de colágeno não foi observado. Aos 7 dias observaram um infiltrado inflamatório mais fino e presença de eosinófilos, diminuição de edema, congestão, exsudação, pequena proliferação fibroblástica e formação de colágeno. Aos 14 dias, não foi aparente a presença exsudato, leucócitos e fibrina. Infiltração inflamatória foi semelhante aos 7 dias, a formação de colágeno foi a mesma, porém a proliferação fibroblástica aumentou suavemente. Infiltração inflamatória desapareceu aos 28 dias, não houve presença de edema, congestão, exsudação, necrose ou eosinófilos. Proliferação fibroblástica e formação de colágeno foi igual aos 14 dias. Em 56 dias observaram uma fina camada fibrosa ao redor do material implantado, mas não encapsulado. Houve um avanço na melhoria da reação tecidual, que pode ser considerada saudável.

Costa et al.²² (2000) avaliaram a biocompatibilidade de duas resinas adesivas G1- Clearfill Liner Bond 2 e G2- Single Bond em comparação ao G3- Dycal. Cinquenta e quatro tubos de polietileno preenchidos com os cimentos a serem testados foram imediatamente implantados no tecido conjuntivo de ratos. Após 7, 30 e 60 dias os animais foram sacrificados e as amostras analisadas através de microscopia ótica. Aos 7 dias, os grupos G1 e G2 mostraram moderada à intensa reação inflamatória, ao passo que o grupo G3 exibiu moderada reação. Aos 30 dias G1 e G2 mostraram média à moderada reação inflamatória e o grupo G3 nenhuma reação inflamatória. Aos 60 dias G1 e G2 nenhuma ou pouca reação inflamatória e G3 nenhuma. A espessura da cápsula fibrosa apresentou-se espessa aos 7 dias em todos os grupos. Aos 30 dias, G1 e G2 apresentaram espessura de cápsula fibrosa espessa e delgada, ao passo que em G3 houve apenas espécimes com cápsula fibrosa delgada. Aos 60 dias G1 e G2 apresentaram um número maior de espécimes com cápsula fibrosa delgada e um pequeno número com cápsula fibrosa espessa, ao passo que em G3 apenas espécimes com cápsula fibrosa delgada foram encontrados. Os autores concluem que embora os cimentos apresentaram resposta inflamatória decrescente com o passar do tempo, o cimento de hidróxido de cálcio mostrou-se menos irritante e melhor tolerado pelos tecidos.

Figueiredo et al.²³ (2001) utilizaram 30 coelhos New Zealand, para avaliar a pigmentação (reação clínica) e resposta tecidual (reação histológica) de 4 cimentos endodônticos N-Rickert (8 coelhos), AH26 (8 coelhos), Fillcanal, (7 coelhos), Sealer26 (7 coelhos), colocados na mucosa oral, por injeção submucosa e implantação de tubos de polietileno. Um tipo de cimento foi utilizado em cada grupo. Os cimentos foram introduzidos por injeção submucosa no lado direito do filtro anterior, e no lado esquerdo foram implantados tubos de polietileno contendo os cimentos. Após anestesiados, para os grupos que receberiam injeção submucosa, injetou-se 0,1mL dos cimentos. O mesmo cimento injetado do lado direito foi implantado no lado esquerdo. Metade dos tubos foram empurrados para causar um leve extravasamento, simulando uma situação clínica, onde o material de preenchimento fica em contato com o tecido conjuntivo antes da reação de presa completada. As observações clínicas foram feitas depois de 30, 60 e 90 dias onde avaliaram através de microscopia a área adjacente ao tubo onde o cimento extravasou, e a área ao redor da injeção submucosa. O cimento N-Rickert apresentou mais tecido de granulação, seguido do Fillcanal, Sealer26, AHPlus.

Fillcanal maior prevalência de neutrófilos polimorfonucleares, eosinófilos polimorfonucleares, seguido do N-Rickert, AH-26, Sealer 26. Nenhum cimento apresentou eosinófilo em grande quantidade. Houve grande presença de infiltrado de linfócitos e células plasmáticas com AH-26, seguido do Fillcanal, N-Rickert, Sealer26. Todos os cimentos apresentaram grande quantidade de macrófagos e células gigantes, e apenas os cimentos que contêm prata apresentaram depósito nas paredes dos vasos. Fillcanal apresentou abscesso. Todos os cimentos causaram formação severa de fibroplasia. Quando avaliados os métodos de inserção, os cimentos apresentaram diferenças mínimas. O método de inserção não interferiu com a formação de resposta inflamatória. N-Rickert e AH-26 apresentaram grande formação de abscesso com injeção submucosa quando comparado com implante de tubo polietileno. Fillcanal foi o cimento mais irritante, seguido pelo N-Rickert, e AH-26, Sealer 26.

Gomes-Filho et al.²⁴ (2001) estudaram o uso do glicolmetacrilato (GMA) como um material de inclusão de tecido conjuntivo em subcutâneo de ratos, os quais receberam implantação de tubos de polietileno com cimentos endodônticos. Os tecidos de ratos contendo os tubos são removidos e cortados transversalmente ao meio, e as duas metades são cortadas novamente longitudinalmente em duas partes iguais, que são incluídas por diferentes materiais. Uma parte em GMA e a outra em parafina. Os resultados obtidos da inclusão em GMA mostraram a orientação original do tubo preenchido pelo cimento endodôntico, e uma infiltração de células inflamatórias ao final do tubo. A qualidade de definição das células e a coloração permitiram uma análise quantitativa do infiltrado celular, distinguir claramente células inflamatórias crônicas e agudas, quando comparado com o método de inclusão em parafina. Porém mais tempo é necessário para a obtenção de melhores resultados usando técnica de GMA, porque, durante o processo de polimerização o GMA pode não reagir com algum tipo de tecido de importância no processo de coloração, havendo dificuldade de penetração das soluções nos blocos de tecidos.

Schwarz et al.²⁵ (2002) avaliaram o potencial citotóxico dos seguintes cimentos endodônticos, AH Plus, Apexit, Endometazone, Ketac-endo, N2, durante as 24 horas após sua manipulação. Valores de pH foram determinados e nenhuma alteração de pH foi observada durante o metabolismo celular. Todos os cimentos investigados com exceção do Apexit, exibiram efeito citotóxico. A severidade das alterações citotóxicas variaram dependendo do tempo de presa do material.

Contrariamente a todos os cimentos, o N2 inibiu completamente o metabolismo celular para todos os períodos experimentais. Ketac-endo mostrou severo potencial citotóxico quando comparado com o controle, efeito tóxico moderado foi encontrado apenas com o AH Plus. O Apexit não apresentou efeito tóxico.

Kaplan et al.⁵ (2003) avaliaram o escoamento, e biocompatibilidade de 5 cimentos endodônticos. Os cimentos utilizados foram Procosol, Endometazone, AH 26, Sealapex e Endion. Para o teste de biocompatibilidade foram utilizados 30 ratos, os quais receberam tubos de polietileno preenchidos com os cimentos testados implantados no lado direito do dorso dos animais e no lado esquerdo implantaram tubo vazio como controle. Após 14 dias os animais foram sacrificados para a obtenção das amostras seguindo-se o protocolo de preparo do processo histológico. Nas amostras histológicas do grupo do Procosol, houve uma reação inflamatória bem limitada, ao redor da cápsula fibrosa, pequenos vasos, infiltrado crônico e fibroblastos ativos, a zona central exibiu muitos neutrófilos e alguns macrófagos, algumas partículas do material foram encontradas no tecido reacional. O Endion produziu uma reação inflamatória intensa caracterizada por infiltrado crônico, muitas partículas do material do outro lado do limite do tubo e células gigantes de corpo estranho ao redor. A reação do Endometasone foi pequena, mostrando infiltrado crônico e vasos sem uma precisa cápsula fibrosa, poucas partículas do material foram encontradas fora do tubo. A mesma reação foi encontrada para o AH26 e Sealapex. Para o grupo controle foi encontrado uma reação limitada. As mensurações histomorfométricas mostraram que o tamanho da reação inflamatória foi maior para o Procosol e Endion e menor para os outros 3 materiais.

Kim et al.²⁶ (2004) compararam a biocompatibilidade de um novo cimento à base de fosfato de cálcio (CAPSEAL I), com outro tipo de cimento de fosfato de cálcio (CAPSEAL II), cimento de apatita tipo I (ARS I), cimento de apatita tipo II (ARS II) e um cimento à base de óxido de zinco e eugenol (Pulp Canal Sealer). Utilizaram 64 ratos, onde implantaram os tubos preenchidos com os cimentos no subcutâneo. Tubos vazios foram utilizados como controle. Foram 5 grupos de 3 animais cada para cada período experimental de 1, 2, 4 e 12 semanas. Nos resultados histopatológicos não encontraram diferenças significativas entre os grupos de materiais testados. Porém houve diferença significativa entre os períodos experimentais de todos os grupos de cimento $p < 0.05$. Não foi observado inflamação no grupo controle. Uma semana depois da implantação o grupo do cimento Pulp

Canal Sealer e ARS II mostraram uma severa reação inflamatória com acúmulo de macrófagos, linfócitos e células gigantes. Uma moderada para severa reação inflamatória foi observada no grupo ARS I e grupo CAPSEAL I e CAPSEAL II para 1 semana. Em todos os grupos a intensidade da resposta tecidual diminuiu em 2 semanas e a inflamação diminuiu com o tempo. Fibroblastos, fibras colágenas com poucas células inflamatórias e cápsula fibrosa foram observadas em 12 semanas. A reação do grupo do ARS I foi igual para o grupo do Pulp Canal Sealer em 2 e 4 semanas, porém a resposta inflamatória do grupo ARS II foi maior que para o Pulp Canal Sealer. O ARS II mostrou uma mesma resposta que o Pulp Canal Sealer em 12 semanas. O CAPSEAL I e CAPSEAL II mostraram menor inflamação que os outros grupos de cimento em todos os períodos experimentais. A resposta do tecido entre o CAPSEAL I e grupo do CAPSEAL II foram similares.

Zmener et al.²⁷ (2004) analisaram a biocompatibilidade do cimento EndoRez (ER), quando implantado em tubos de silicone no tecido conjuntivo em subcutâneo de 24 ratos. Tubos de silicone fechados, serviram como controle. Os animais foram sacrificados em grupos de 6 depois de 10, 30, 90 e 120 dias. Os espécimes corados foram analisados em microscopia ótica. A análise macroscópica do lado da implantação mostrou-se saudável em todos os períodos de observação. A avaliação histológica mostrou que os implantes fechados foram rodeados por tecido conjuntivo encapsulado de várias espessuras. Aos 10 dias, a área em contato com ER mostrou reação granulomatosa severa, com neutrófilos polimorfonucleares, linfócitos e ocasionais plasmócitos. O material estranho observado foram liberados do cimento ER contido dentro do tubo. Já no grupo controle observou-se reação média composta por fibroblastos jovens e poucas células inflamatórias. Aos 30 dias, a severidade da reação do tecido diminuiu, macrófagos e células gigantes de corpo estranho contendo material foram vistas em contato com o cimento ER. Uma reação média com fina cápsula conjuntiva de 50 µm aproximadamente, e alguns linfócitos e plasmócitos dispersos foram observados em contato com o controle. Aos 90 dias reação granulomatosa foi qualificada como moderada. As áreas em contato com o ER mostraram cápsula de tecido conjuntivo fibroso de 50 a 100 µm de espessura contendo pouca concentração de células inflamatórias crônicas. No controle, encapsulação fibrosa de 100 a 150µm de espessura sem sinais de inflamação. Aos 120 dias, tecido conjuntivo saudável pode ser observado em contato direto com ER. Muitos espécimes apresentaram cápsula de tecido conjuntivo fibroso com espessura

de 100 a 200 μm , livre de células inflamatórias. No grupo controle observou-se cápsula fibrosa de espessura de aproximadamente 100 a 250 μm sem sinais de inflamação.

Valera et al.²⁸ (2004) avaliaram a biocompatibilidade dos cimentos Sealapex, Apexit, Sealer 26, e Ketac Endo, através do preenchimento de tubos de polietileno contendo os cimentos experimentais, e implantação no tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. Os períodos de avaliação foram de 14 e 90 dias. A análise dos resultados mostraram que todos os cimentos apresentaram após 90 dias redução da reação inflamatória.

Zmener et al.²⁹ (2005) avaliaram a reação do osso quando em contacto com o cimento endodôntico EndoRez (ER), utilizando 20 ratos Wistar, onde implantaram tubos de polietileno contendo o material na tíbia do lado direito. Uma tira de tubo na mesma medida foi introduzida na tíbia do lado esquerdo e serviu como controle negativo. Depois de 10 e 60 dias, 10 tíbias experimentais e 10 controle foram colhidas, os espécimes foram descalcificados e processados em blocos de parafina. Utilizaram como parâmetros de avaliação a densidade de formação óssea (BDF) e a população celular na área em contato direto com o ER. O silicone implantado foi utilizado como parâmetro de avaliação para determinar a reação tecidual do material implantado. Mensurações histométricas do BDF foram realizadas com microscópio conectado a um analisador de imagens. A BDF foi calculada e mensurada em porcentagem de osso novo. As mesmas secções que foram utilizadas para mensurar BDF foram utilizadas para a contagem de células. O resultado da análise estatística para a BDF mostrou diferença estatisticamente significativa entre o material experimental e controle aos 10 dias. A quantidade de osso reacional formado em contato com ER foi significativamente menor do que o observado para o controle. Porém após 60 dias não houve diferença. O número de células inflamatórias observadas aos 10 dias em contato direto com o ER foi grande e diferente significativamente, quando comparados ao controle. Aos 60 dias não houve diferença significativa para o número de células em contato com o ER e o controle. Proliferação fibroblástica em contato com a área do ER e controle foi observada em ambos os períodos de avaliação.

Kao et al.³⁰ (2006) compararam a biocompatibilidade in vitro e in vivo de cimentos à base de hidróxido de cálcio, óxido de zinco e eugenol e agregado de trióxido mineral implantados no músculo da região do quadril de quarenta ratos. No

grupo controle foi injetado água para produzir o mesmo stress. Os animais foram sacrificados após 6 e 8 semanas. Realizaram radiografias digitalizadas do lado da perna que recebeu o implante, sendo os espécimes processados em laboratório e analisados em microscopia ótica. A análise das radiografias mostrou que os materiais foram apropriadamente implantados. A estrutura do material implantado manteve-se intacta depois de 6 semanas e 8 semanas, com exceção do cimento de hidróxido de cálcio, sendo possível observar a presença de um anel radiopaco ao redor deste material. No grupo controle não foram observadas células inflamatórias. No grupo do cimento à base de hidróxido de cálcio o material implantado foi rodeado por tecido fibroso com um decréscimo de tecido conjuntivo observado entre 6 e 8 semanas, não havendo evidências de células inflamatórias e deposição de colágeno neste grupo experimental. O grupo com o cimento à base de agregado de trióxido mineral apresentou uma estrutura muscular evidente ao redor do material após 6 semanas e uma camada fibrosa após 8 semanas. Não houve evidências de inflamação, depósito de colágeno ou mineral. No grupo com cimento à base de óxido de zinco e eugenol, a estrutura muscular ao redor do implante consistiu de tecido conjuntivo fibroso e células inflamatórias no período de 6 e 8 semanas. Não houve evidência de depósito mineral. O estudo mostrou que o agregado de trióxido mineral tem uma alta biocompatibilidade, confirmando os achados de outros estudos, sendo que o cimento à base de óxido de zinco e eugenol mostrou-se menos biocompatível.

Souza et al.³¹ (2006) avaliaram a biocompatibilidade intraóssea dos cimentos AH Plus, EndoRez, Epiphany. Os materiais foram manipulados e colocados em tubos de polietileno implantados no osso mandibular de 30 porcos guinea. Cada animal recebeu dois implantes do mesmo material que foram avaliados nos períodos de observação de 4 e 12 semanas. A resposta tecidual do lado de fora da parede lateral do tubo de polietileno serviu de controle negativo. Nos períodos de observação os porcos guinea foram sacrificados, e os espécimes preparados para observação histológica. Observaram que os tubos foram preenchidos por tecido ósseo e fina camada de conjuntivo sem reação inflamatória entre o tubo e osso de todos os espécimes testados. O cimento AH Plus e EndoRez em 4 semanas apresentou reação severa, fina camada de tecido conjuntivo, intenso infiltrado inflamatório, presença de macrófagos, linfócitos e células gigantes de corpo estranho, fragmentos de osso necrótico. No período de 12 semanas a reação

inflamatória do AH Plus foi classificada como moderada, houve presença de algumas células gigantes de corpo estranho e fina camada de tecido conjuntivo entre material e osso, e o EndoRez continuou apresentando reação inflamatória severa, área hemorrágicas. O cimento Epiphany em 4 semanas apresentou nenhuma/leve resposta inflamatória, tecido conjuntivo organizado próximo ao material testado, poucas células inflamatórias e material disperso. Em 12 semanas observou-se neo-formação óssea próxima ao material, fina camada de tecido conjuntivo e ausência de células inflamatórias. Os resultados mostraram que o Epiphany foi o único material que apresentou biocompatibilidade óssea nos dois períodos analisados.

Veloso et al.³² (2006) avaliaram histologicamente o comportamento tecidual subcutâneo de ratos após implantes de tubos de polietileno preenchidos com os cimentos Sealapex, Apexit, Sealer 26. As análises foram realizadas em intervalos de 48 horas, 7, 21, 60 dias e mostraram que todos os cimentos foram irritantes, mas em intensidades que variaram em função do tempo. Nos períodos iniciais os materiais mostraram um quadro inflamatório de moderado à severo, nos períodos de 21 e 60 dias as amostras de Sealapex mostraram um quadro ativo em fase involutiva, em relação aos cimentos Apexit, Sealer 26.

Gomes-Filho et al.³³ (2007) avaliaram in vivo a biocompatibilidade dos cimentos Endomethasone, Pulp Canal Sealer EWT e AH Plus, após implantação em tecido conjuntivo de 24 ratos. Os implantes foram removidos após 3, 7, 30 dias. No 3º dia o grupo do cimento Pulp Canal Sealer apresentou uma reação inflamatória leve, mas os outros cimentos uma resposta severa com presença de células inflamatórias agudas. No 7º dia a reação inflamatória diminuiu especialmente para o AH Plus, e aos 30 dias o tecido conjuntivo com poucas células inflamatórias foi observado em contato com todos os cimentos implantados. A severidade da reação inflamatória diminuiu com o tempo, e todos os cimentos apresentaram uma reação leve persistente, porém o Pulp Canal Sealer EWT mostrou um tecido melhor organizado que o Endomethasone e AH Plus.

Leonardo et al.¹³ (2007) objetivaram avaliar a resposta dos tecidos perirradiculares depois de tratamento endodôntico com os canais radiculares preenchidos com Epiphany cones de guta percha ou resilon e o novo Sealapex em dentes de cães com e sem restauração coronária. Após 90 dias foram examinados por microscopia de luz, mostrando que os canais obturados com Epiphany/Resilon

com restauração coronária obtiveram menor inflamação perirradicular do que os canais preenchidos com Sealapex e cones de guta percha com restauração coronária. Não houve diferença significativa quanto à intensidade da inflamação entre os canais preenchidos com Epiphany/Resilon sem restauração e Sealapex/guta percha com restauração. Os canais preenchidos com Sealapex/guta percha sem restauração mostraram alto grau de inflamação perirradicular.

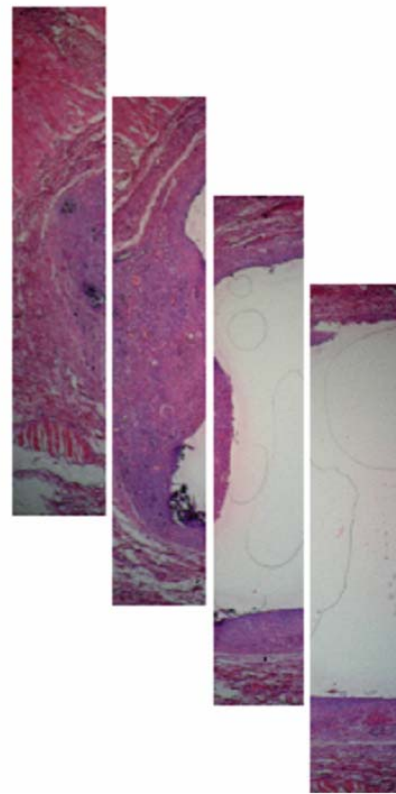
Zafalon et al.³⁴ (2007) avaliaram a reação do tecido conjuntivo subcutâneo, após implantação de tubos contendo os cimentos Endomethasone e EndoRez. Os períodos analisados foram de 15, 30, 60 e 90 dias através da intensidade da inflamação seguindo os critérios da FDA. A resposta do tecido conjuntivo ao longo da parede lateral do tubo serviu como controle negativo, e mostraram não haver reação inflamatória em todos os períodos experimentais. Como resultado o Endomethasone apresentou biocompatibilidade dentro dos períodos analisados e o EndoRez não apresentou biocompatibilidade demonstrando uma reação e sugestão de hipersensibilidade tardia.

3 PROPOSIÇÃO

O presente estudo se propôs a avaliar a biocompatibilidade de quatro cimentos endodônticos, com diferentes composições químicas, por meio da implantação de tubos de polietileno, contendo o material, no tecido conjuntivo subcutâneo de ratos.

étodos

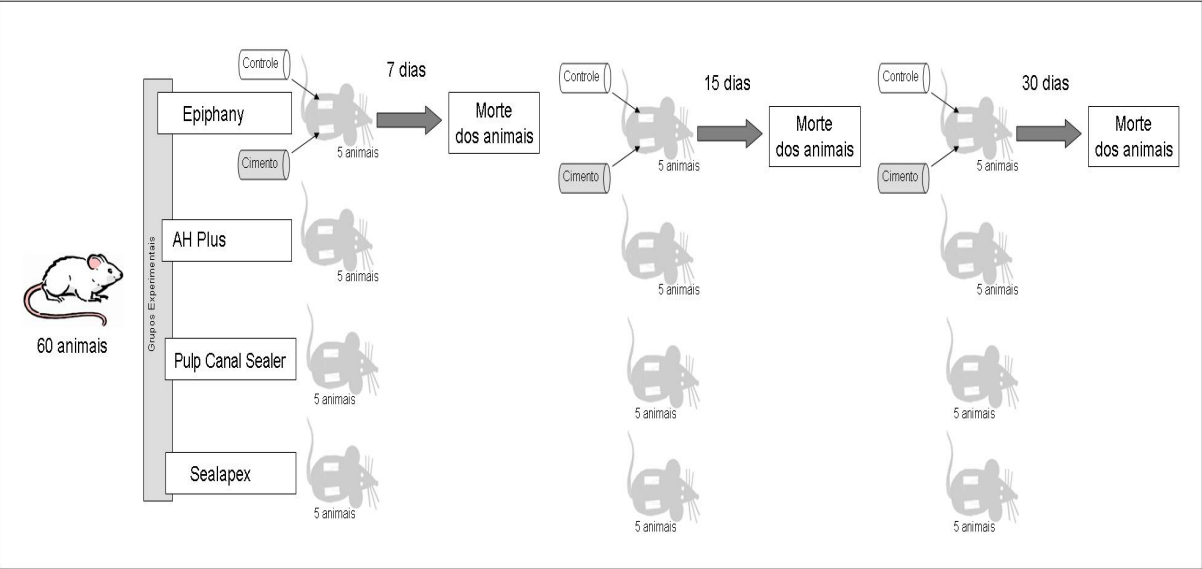
MATERIAL E
MÉTODOS
MATERIAL E MÉTODOS



4 MATERIAL E MÉTODOS

Para a avaliação da biocompatibilidade dos cimentos endodônticos, utilizou-se 60 ratos *Norvergicus albinos*, *Wistar*, machos, com idade variando entre 2 a 3 meses e peso corporal entre 200 e 300g, procedentes do biotério da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Os animais foram mantidos em condições de saúde satisfatória, recebendo alimentação adequada (Nuvilab®, Nuvital Nutrientes Ltda, Colombo – Brasil), vermífugo (Nuvilab® SBZ, Nuvital Nutrientes Ltda, Colombo – Brasil) e água *ad libitum*. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa, processo nº 6295/06.

Inicialmente os animais foram pesados, identificados e divididos aleatoriamente em quatro grupos experimentais, com 20 animais em cada grupo, a representação destes grupos encontra-se no Esquema 1. Grupo1: Epiphany, cimento à base de resina plástica (Uretano Dimetacrilato); Grupo 2: AH Plus, cimento à base de resina plástica (epóxi-amina); Grupo 3: Pulp Canal Sealer EWT, cimento à base de óxido zinco e eugenol; Grupo 4: Sealapex, cimento à base de hidróxido de cálcio. A composição dos cimentos está descrita no Quadro 1.



Esquema 1 - Representação esquemática da distribuição dos grupos e tempos experimentais

MATERIAL	INDÚSTRIA	COMPOSIÇÃO
EPIPHANY	Pentron Clinical Technologies, LLC., Wallingford, CT, EUA.	BISGMA, PEGDMA,EBPADMA, UDMA, Sulfato de bário, óxido de bismuto, hidróxido de cálcio, estabilizadores e pigmentos
AH PLUS	Dentsply De Trey, Konstanz, Alemanha	Pasta A: resina epóxica, tungstênio de cálcio, óxido de zircônio, aerosil, óxido de ferro Pasta B: amina adamantana, N,N-Diberncil-5-oxanonano-diamina-1,9,TCD-Diamina, tungsteanato de cálcio, aerosil, óleo de silicone
PULP CANAL SEALER EWT	SybronEndo, Glendora,CA, EUA	Pó: Óxido de zinco, precipitado molecular de prata, óleos resinosos, thymoliodide. Líquido: óleo de cravo, bálsamo do Canadá
SEALAPEX	SybronEndo-Sybron, Glendora,CA, EUA	BASE: Fosfato de tricálcio 3%, Óxido de zinco 2,5%, Óxido de cálcio 20%, CATALISADOR: Resina de Salicilato de metil metileno 39%, trióxido de bismuto 29%, Pigmento 1,0%, Dióxido de titânio 2,0%, Estereato de zinco 1,0% Sílica 3,0%

Quadro 1 - Composição química dos cimentos endodônticos

Os animais foram anestesiados de acordo com protocolo definido pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA, (Mezadri et al.³⁵ 2004) sendo 3,75mL de cetamida - 100mg/mL (cloridrato de Cetamina a 1% Vetaset[®]), 0,5mL de xylasina – 100mg/mL (cloridrato de Xilasina a 0,2% - Virbaxyl[®]) e 5,75mL de água destilada, na proporção de 0,2mL/100g de peso do animal.

Realizou-se a tricotomia manual na região dorsal dos animais e desinfecção da pele com álcool iodado (95% de álcool 70% / 5% de iodo). A seguir, realizou-se uma incisão central de aproximadamente 15 mm de extensão, na região do terço médio do dorso do animal utilizando bisturi com lâmina nº15 e a seguir, divulsão do tecido, tanto para o lado direito como esquerdo, servindo-se de uma tesoura com ponta romba. A divulsão do tecido estendeu-se por aproximadamente 20 mm (Costa et al.³⁶2001), criando-se desta maneira duas bolsas (direita e esquerda) no subcutâneo dos animais.

Os materiais a serem avaliados foram manipulados, seguindo orientações dos fabricantes, e inseridos no interior de tubos de polietileno (sonda naso-gástrica) medindo 10 mm de comprimento por 1,5 mm de diâmetro externo, tendo uma das extremidades fechada, utilizando-se de um instrumento aquecido. Os cimentos endodônticos foram levados ao interior do tubo, após estes terem sido autoclavados, com auxílio de uma espiral lentulo nº 4*, tomando-se cuidado para não haver extravasamento do material. No grupo controle os tubos estavam vazios e com ambas as extremidades fechadas. Cada animal recebeu 2 implantes contra-laterais. Na bolsa do lado direito foi inserido o tubo contendo o cimento endodôntico e, na bolsa do lado esquerdo o tubo vazio (controle). Procedeu-se a sutura com pontos isolados utilizando-se fio agulhado** e porta agulha *** Figura 1.

* Maillefer, Baillanges, Suíça

**mononylon 4-0 (Shalon[®])

***Duflex – (SS White, Brasil).

Após transcorridos os períodos de 7, 15 e 30 dias do início do experimento, os animais dos 4 grupos do período de avaliação, foram novamente anestesiados, realizando-se a tricotomia e desinfecção da região, como descrito anteriormente. Os implantes foram localizados por palpação e removidos com margem de tecido, mantendo o tubo na sua posição. Obteve-se duas amostras para cada animal, sendo uma do lado esquerdo (controle) e outra do lado direito (cimento). A peça cirúrgica contendo o tubo e tecidos adjacentes foi distendida em papel cartão de tamanho compatível, com o tecido conjuntivo em contato com o papel. Este procedimento faz com que as peças cirúrgicas permaneçam “abertas”, facilitando a fixação do tecido.

As amostras foram fixadas com solução de Formol a 10% em frascos unitários, com identificação do animal e grupo, por 48 horas. Posteriormente, os animais foram anestesiados e mortos por deslocamento cervical. Antes da inclusão em parafina, realizou-se a remoção cuidadosa dos tubos de polietileno (Figura 2); posteriormente as peças cirúrgicas foram incluídas em blocos de parafina, orientados paralelamente ao longo eixo, para realização de cortes semi-seriados (micrótomo manual - 820 Spencer - Lupe), com 4µm de espessura. Estes cortes foram preparados seguindo protocolo de procedimentos laboratoriais, Michalany³⁷ (1998) e corados pela técnica de Hematoxilina e Eosina de Harris (H.E). Uma vez coradas, as lâminas foram montadas com lamínulas de vidro para microscopia óptica de luz comum.

A análise histopatológica foi realizada por um patologista, o qual desconhecia a que grupo e tempo experimental o material pertencia (estudo cego ou mascarado), após ter-se realizado três leituras em momentos distintos, para obtenção de concordância entre as leituras, do menor para o maior aumento. A análise foi realizada de maneira descritiva, observando-se os seguintes aspectos

microscópicos: A) Espessura da cápsula: delgada – composta por três a cinco camadas de células (1); intermediária – composta por cinco a oito camadas de células (2); espessa – composto por mais oito camadas de células (3); B) Constituição do tecido conjuntivo: fibroso ou frouxo, presença de necrose, feixe vículo-nervoso, eventos vasculares: rexe, neoformação vascular; C) Severidade do infiltrado inflamatório: discreto: pequena concentração de células inflamatórias por campo observado; moderado: maior acúmulo de células inflamatórias; intenso: intensa concentração de células inflamatórias; D) Composição celular do infiltrado inflamatório: linfócitos, macrófagos, plasmócitos e presença de células gigantes multinucleadas inflamatórias (CGMI).

Os dados obtidos foram organizados em tabelas previamente elaboradas como no exemplo da Tabela 1.

Os espécimes foram fotografados em um fotomicroscópio Olympus® BX41 (Olympus, Tokyo, Japan), obtendo-se imagens com resolução de 5.1 Megapixels (máquina digital Olympus Camedia C-5060, Tokyo, Japan).

Tabela 1 - Modelo idealizado para registro dos dados obtidos a partir da avaliação microscópica dos espécimes

Análise de cortes			7 dias					15 dias					30 dias						
			G1	G2	G3	G4	GC	G1	G2	G3	G4	GC	G1	G2	G3	G4	GC		
Epitélio	Cápsula 1 (Delgada)																		
	Cápsula 2 (Média)																		
	Cápsula 3 (Espessa)																		
Tecido Conjuntivo	Constituição	Frouxo																	
		Fibroso																	
		Necrose																	
		Feixe Nervoso																	
		Vasos Sanguíneos																	
		Rexe																	
		Infiltrado Inflamatório	Severidade	Discreto															
	Moderado																		
	Intenso																		
	Composição		PMN	Neutrófilos															
				Eosinófilos															
			MN	Linfócitos															
				Macrófagos															
				Plasmócitos															
Outros	CGM																		

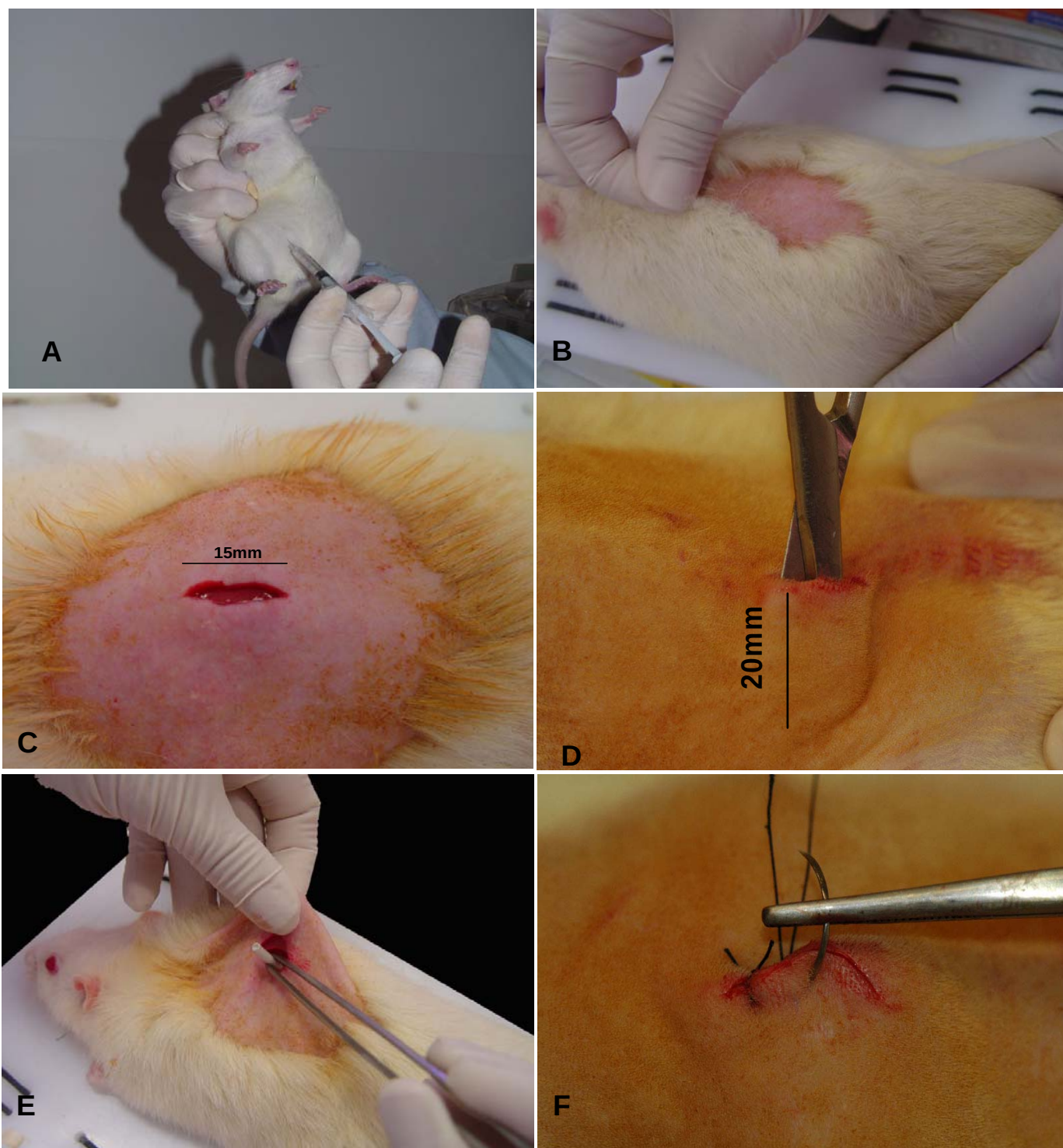


Figura 1 - Sequência de procedimentos operatórios. A- Anestesia; B- Tricotomia manual; C- Incisão central; D- Divulsão lateral para criar bolsas cirúrgicas bilaterais; E- Implantação dos tubos; F- Sutura



Figura 2 - Sequência de preparo dos tubos de polietileno. A –Tubo de polietileno vazio com ambas extremidades fechadas (controle); B- Tubo de polietileno com uma extremidade fechada; C- Cimento endodôntico levado ao interior do tubo com auxílio espiral lentulo.

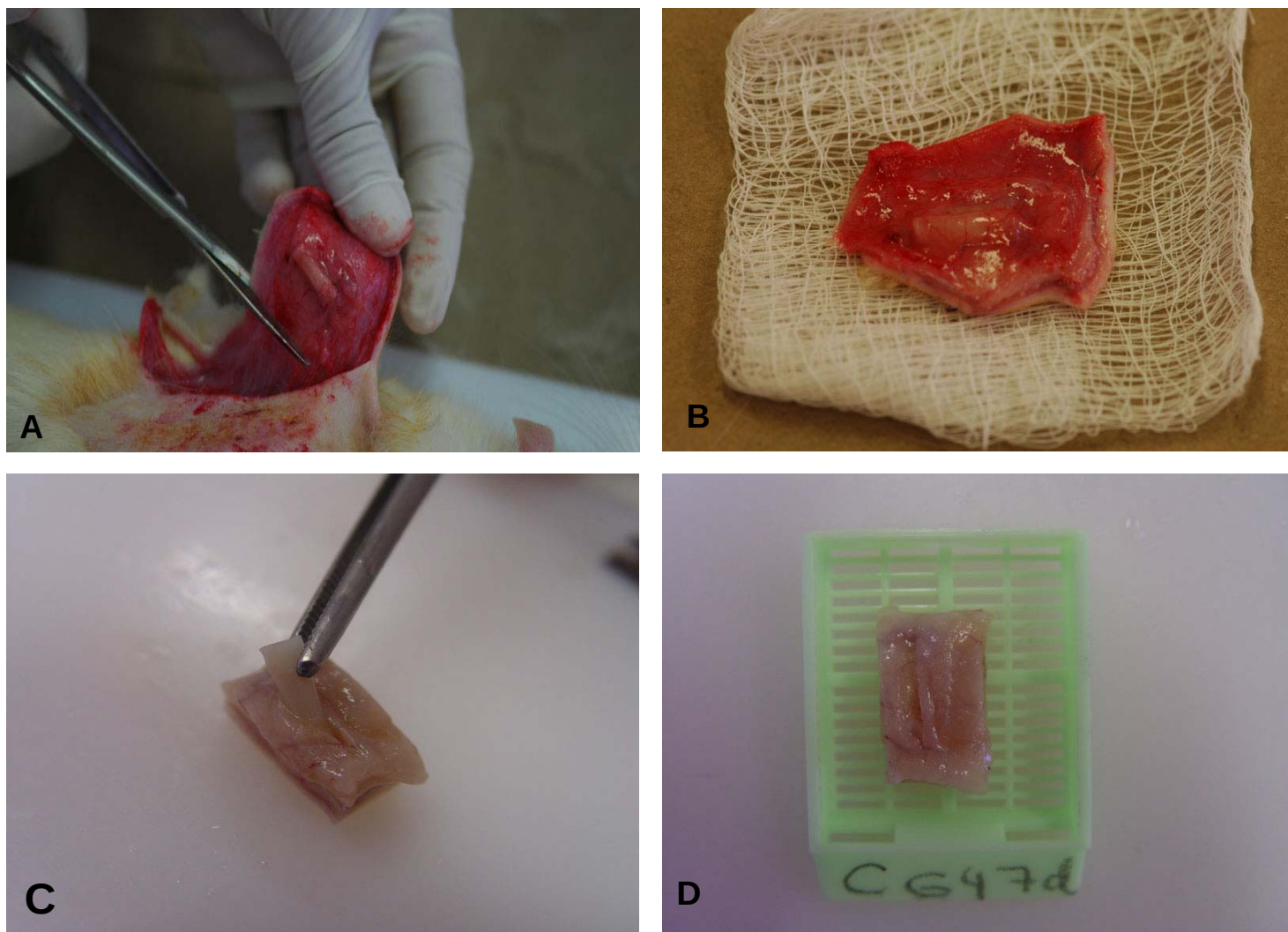
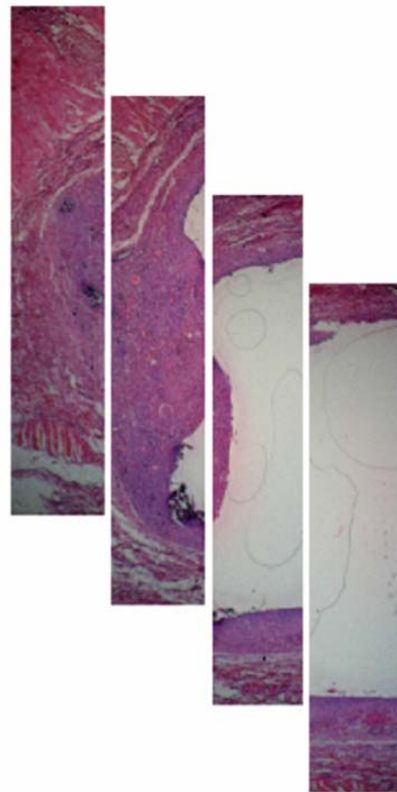


Figura 3 - Sequência de procedimentos operatórios para posterior processamento laboratorial. A e B- Obtenção da peça cirúrgica; C- Redução da peça cirúrgica e remoção do tubo, após fixação ; D- Inserção em cassete para confecção de bloco de parafina

idos

RESULTADOS

RESULTADOS



5 RESULTADOS

5.1 ANÁLISE MICROSCÓPICA DESCRITIVA

A análise microscópica descritiva das reações teciduais foi realizada para os quatro cimentos e controle nos três períodos experimentais. Os dados referentes à espessura da cápsula fibrosa e severidade do infiltrado inflamatório encontram-se nas tabelas 2 e 3, bem como representados pelos gráficos 1 e 2.

5.1.1 Período experimental de sete dias

Observou-se espessura de cápsula intermediária (tipo 2) para os espécimes dos grupos dos cimentos Epiphany, Pulp Canal Sealer EWT e Sealapex, cápsula delgada para o grupo do cimento AH Plus. A análise mostrou infiltrado inflamatório de moderado à intenso para o grupo do Epiphany, moderado para o grupo do AH Plus, e discreto à moderado para os grupos dos cimentos Pulp Canal Sealer EWT e Sealapex, constituído principalmente de linfócitos, plasmócitos e macrófagos. Para os grupos dos cimentos Epiphany e Sealapex, o principal componente celular foi macrófago.

O grupo controle apresentou espessura de cápsula delgada (tipo 1), infiltrado inflamatório discreto, composto por linfócitos, plasmócitos e principalmente macrófagos. A presença de tecido conjuntivo frouxo, feixes vículo-nervosos e vasos sanguíneos foi observada em todos os grupos deste período experimental contudo as CGMI foram observadas nos grupos dos cimentos AH Plus e Sealapex. A presença de rexe foi observada em todos os grupos experimentais com exceção do AH Plus.

5.1.2 Período experimental de 15 dias

Pode-se observar espessura de cápsula intermediária (tipo 2) para os grupos dos cimentos Epiphany, AH Plus e Pulp Canal Sealer EWT, e cápsula delgada (tipo1) para o Sealapex. O infiltrado inflamatório moderado e moderado a intenso para os cimentos Epiphany e AH Plus respectivamente, intenso para o Pulp Canal Sealer EWT, discreto para o Sealapex. O infiltrado foi composto principalmente por linfócitos, plasmócitos e macrófagos. O grupo controle apresentou espessura de cápsula delgada (tipo1), com infiltrado inflamatório discreto composto principalmente por macrófagos. Neste período experimental todos os grupos apresentaram tecido conjuntivo frouxo, feixes vâsculo-nervosos, vasos sanguíneos e rexe. Células Gigantes Multinucleadas foram observadas apenas para o grupo do cimento AH Plus.

5.1.3 Período experimental 30 dias

Neste período experimental a espessura de cápsula foi delgada para o grupo do cimento Epiphany, intermediária para o AH Plus e Pulp Canal Sealer EWT, e delgada para o Sealapex. O infiltrado inflamatório foi discreto para o Epiphany, AH Plus, Sealapex e moderado para o Pulp Canal Sealer EWT; composto por linfócitos, plasmócitos e principalmente macrófagos. para os grupos dos cimentos Epiphany, AH Plus e Sealapex. O grupo controle apresentou cápsula fibrosa de espessura intermediária, infiltrado inflamatório discreto composto por linfócitos, plasmócitos e macrófagos. Todos os grupos apresentaram tecido conjuntivo frouxo, vasos sanguíneos, feixes vâsculo-nervosos, e observou-se rexe para os grupos Pulp Canal Sealer EWT e controle.

Tabela 2 - Espessura da cápsula fibrosa

Cimentos	Intervalo de tempo		
	7 dias	15 dias	30 dias
Epiphany	2	2	1
AH Plus	1	2	2
Pulp Canal Sealer	2	2	2
Sealapex	2	1	1
Controle	1	1	2

1= Delgada; 2= Intermediária; 3= Espessa

Tabela 3- Severidade da resposta inflamatória

Cimentos	Intervalo de tempo		
	7 dias	15 dias	30 dias
Epiphany	moderado/intenso	moderado	discreto
AH Plus	moderado	moderado/intenso	discreto
Pulp Canal Sealer	discreto/moderado	intenso	moderado
Sealapex	discreto/moderado	discreto	discreto
Controle	discreto	discreto	discreto

Discreto= pequeno número de células inflamatórias; Moderado= moderado número de células inflamatórias; Intenso= maior concentração de células inflamatórias

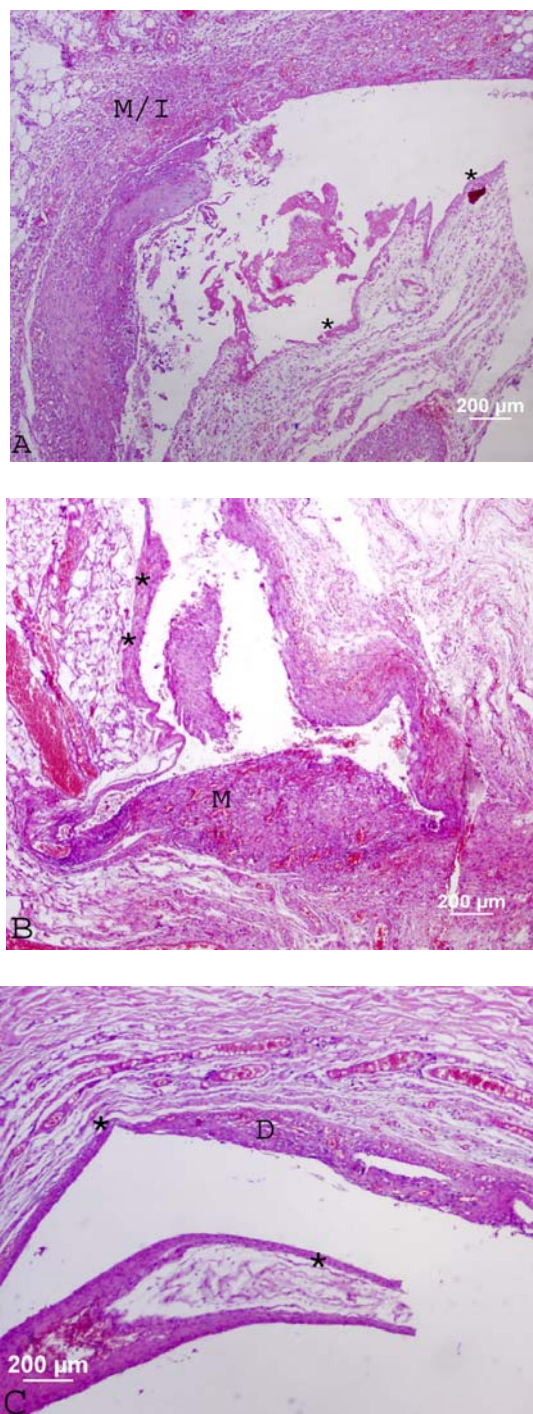


Figura 4 -

Aspectos microscópicos observados no grupo experimental Epiphany. A- 7 dias: espessura da cápsula intermediária*, infiltrado inflamatório moderado a intenso (M/I); B)- 15 dias: espessura da cápsula intermediária*, infiltrado inflamatório moderado (M); C- 30 dias: espessura da cápsula delgada*, infiltrado inflamatório discreto (D)

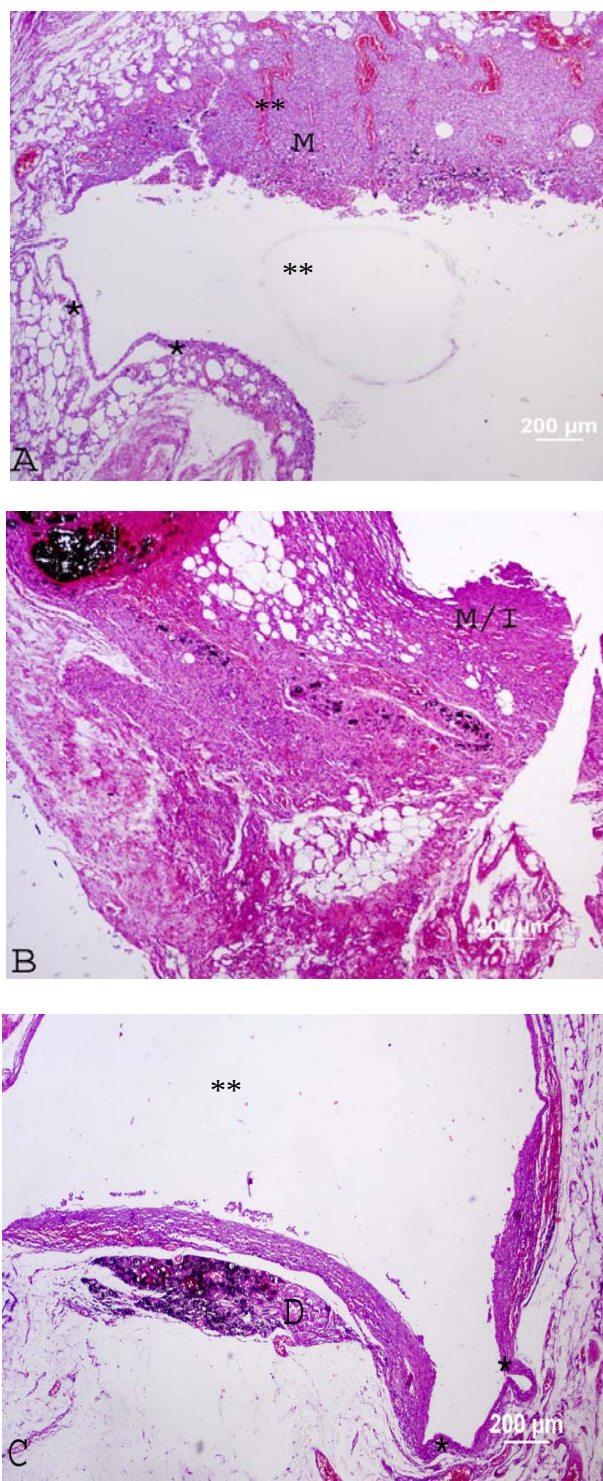


Figura 5- Aspectos microscópicos observados no grupo experimental AH Plus. A)- 7 dias: Espessura da cápsula delgada*, infiltrado inflamatório moderado (M); B) Aos 15 dias: espessura da cápsula intermediária, infiltrado inflamatório moderado a intenso (M/I); C) Aos 30 dias: espessura da cápsula intermediária*, infiltrado inflamatório discreto (D); ** Área do tubo

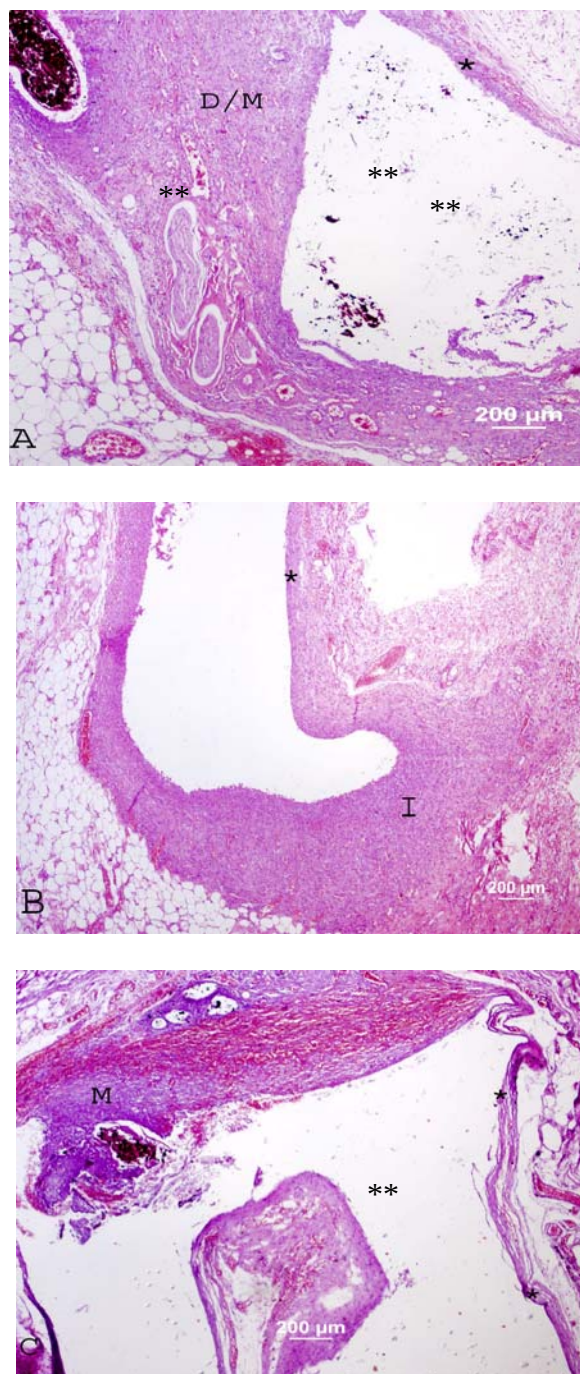


Figura 6 – Aspectos microscópicos observados no grupo experimental Pulp Canal Sealer. A- 7 dias: espessura da cápsula intermediária*, infiltrado inflamatório discreto a moderado (D/M); B- 15 dias: espessura da cápsula intermediária*, infiltrado inflamatório intenso (I); C- 30 dias: espessura da cápsula intermediária*, infiltrado inflamatório moderado (M); ** Área do tubo

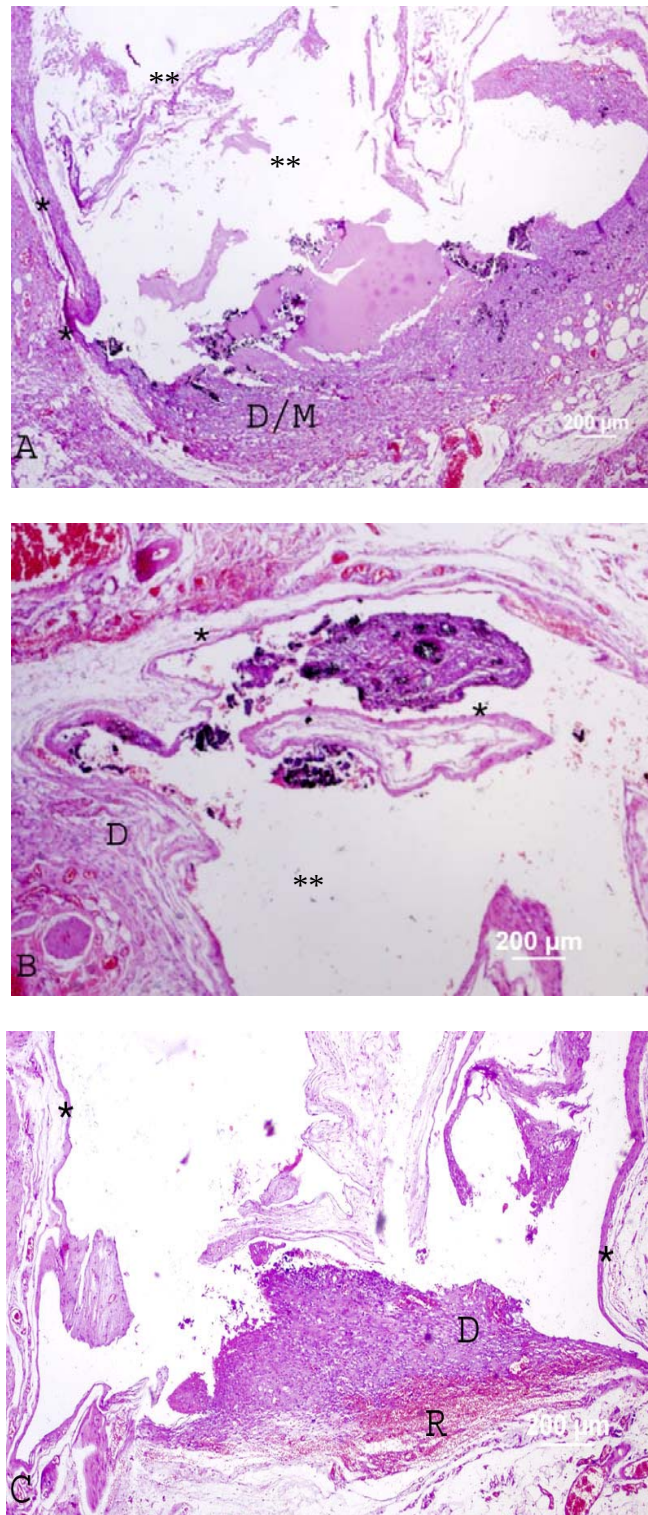


Figura 7 - Aspectos microscópicos observados no grupo experimental Sealapex. A- 7 dias: espessura da cápsula intermediária*, infiltrado inflamatório discreto a moderado (D/M); B- 15 dias: espessura da cápsula delgada*, infiltrado Inflamatório discreto (D); C- 30 dias: espessura da cápsula delgada*, infiltrado inflamatório discreto (D), presença de rexe (R); ** Área do tubo

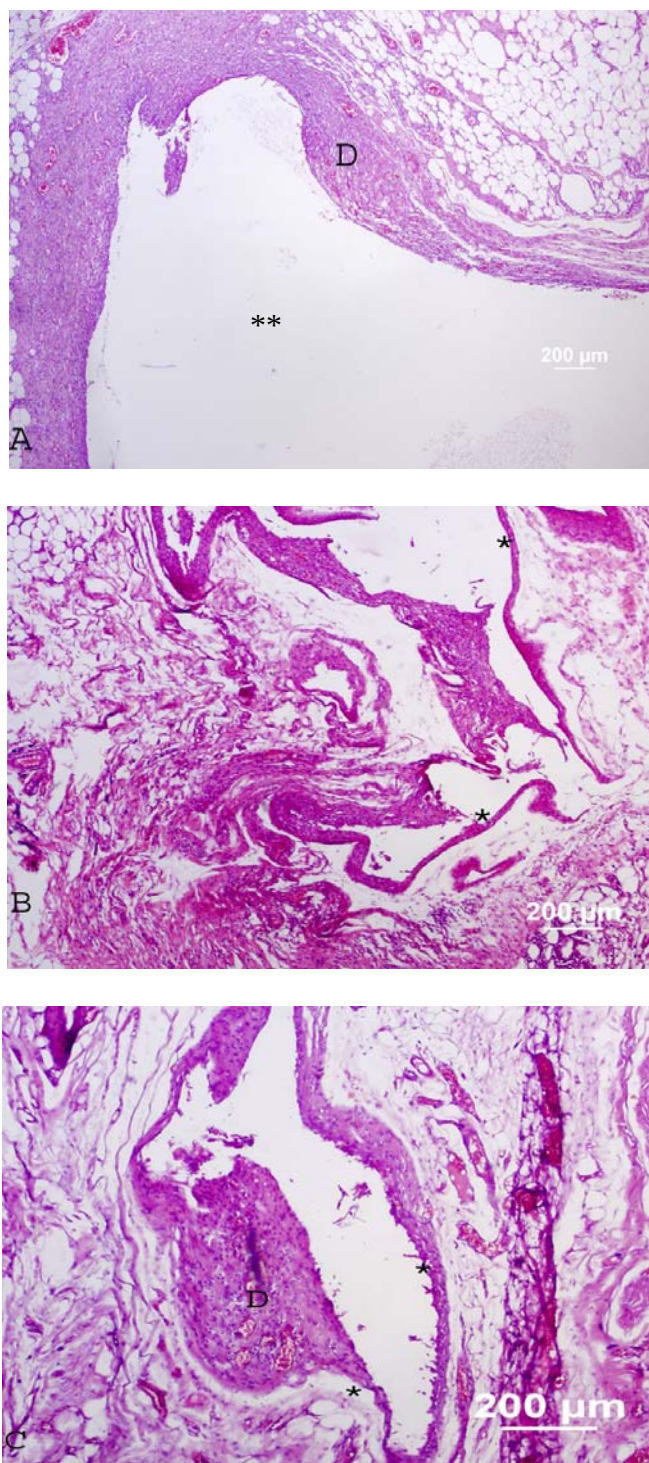


Figura 8 - Aspectos microscópicos observados no grupo controle. A), B) e C) espessura de cápsula delgada*, infiltrado inflamatório discreto nos três períodos de análise; ** Área do tubo

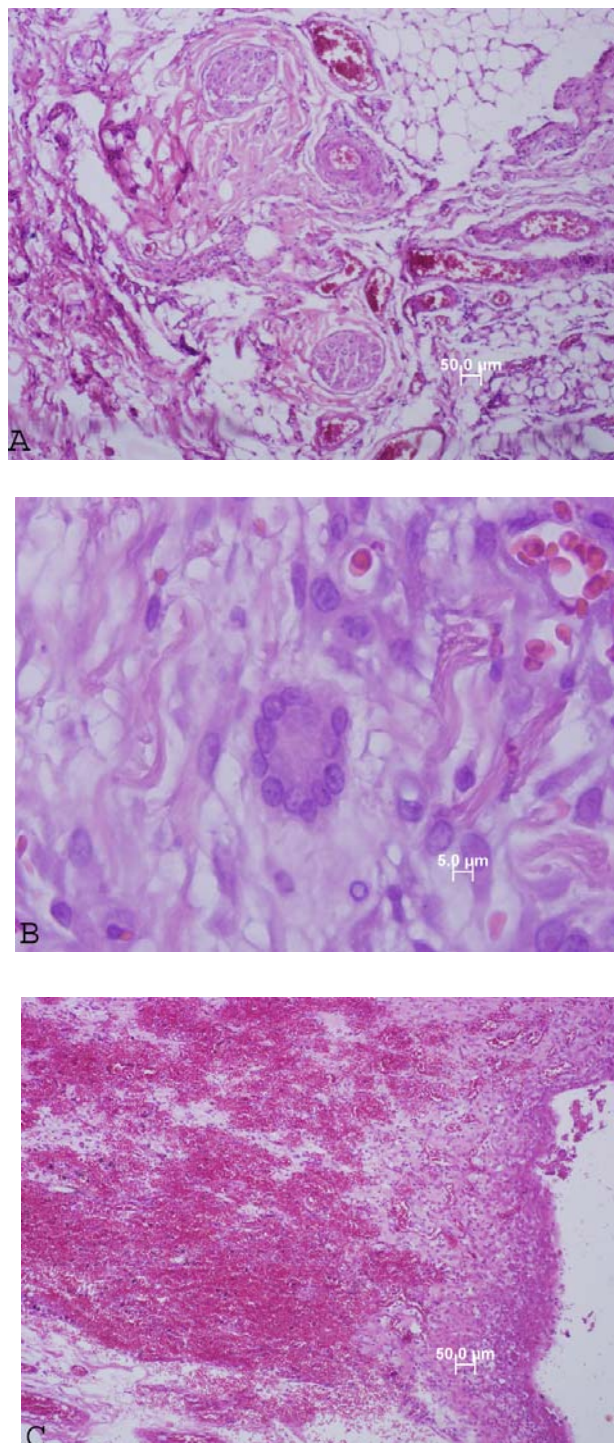


Figura 9 - Aspectos microscópicos particulares observados. A) Feixe vásculo-nervoso; B) CGMI; C) Evento vascular (hemorragia por rexe)

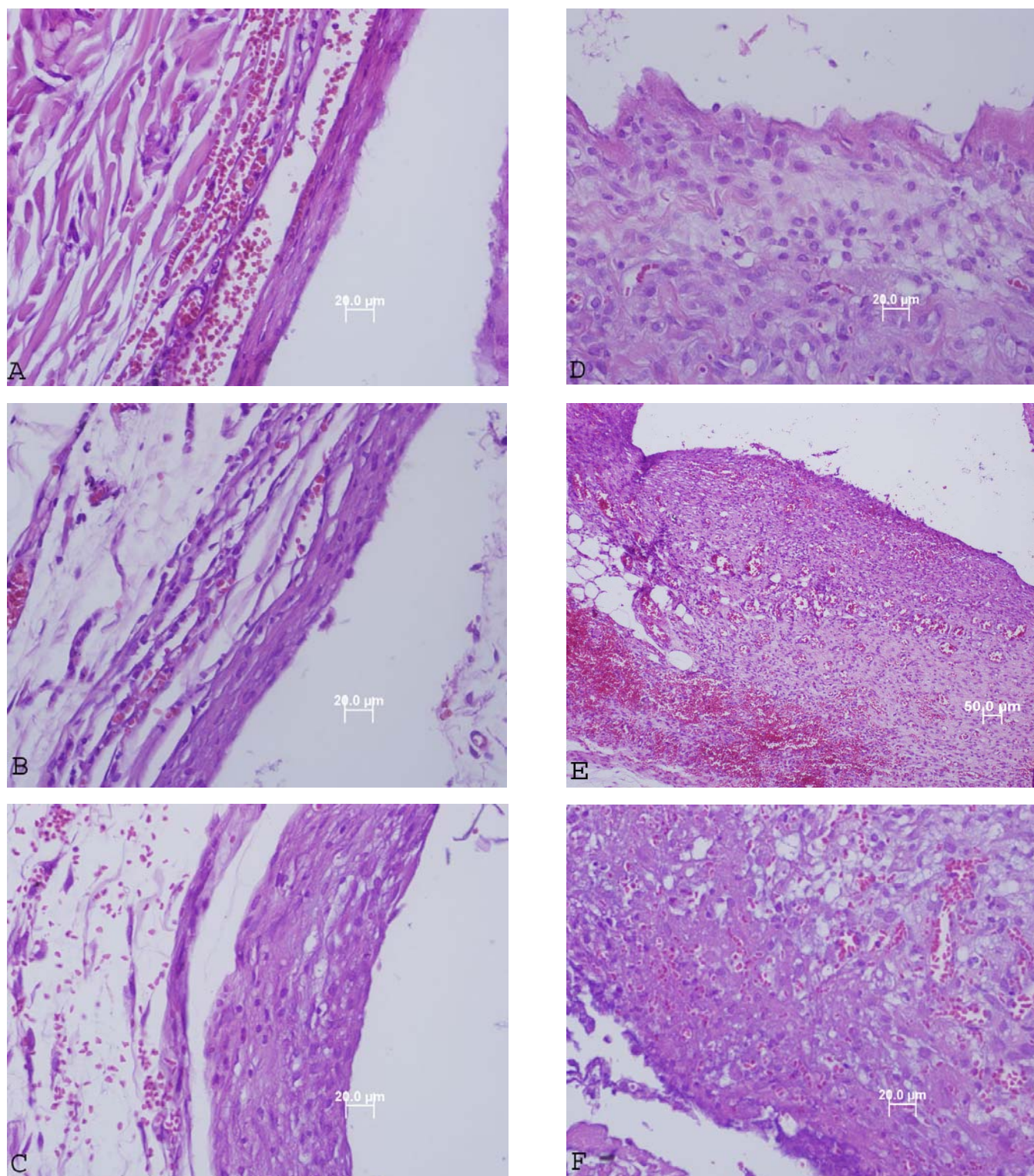


Figura 10 - Aspectos microscópicos demonstrativos das análises. A) Cápsula fibrosa delgada; B) Cápsula fibrosa intermediária; C) Cápsula fibrosa espessa; D) Infiltrado inflamatório discreto; E) Infiltrado inflamatório moderado; F) Infiltrado inflamatório intenso

Na representação gráfica a seguir podemos observar a análise comparativa entre as reações teciduais referentes à espessura da cápsula fibrosa e à severidade da resposta inflamatória nos três períodos de análise e quatro grupos experimentais.

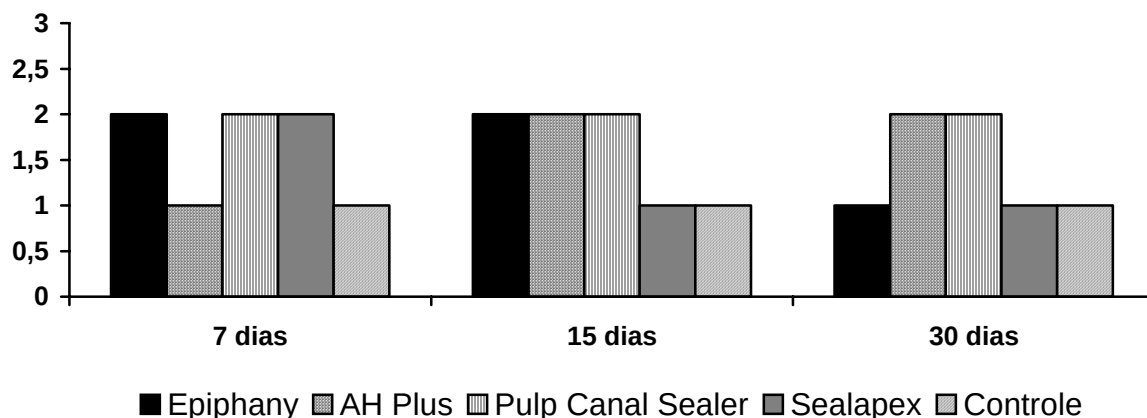
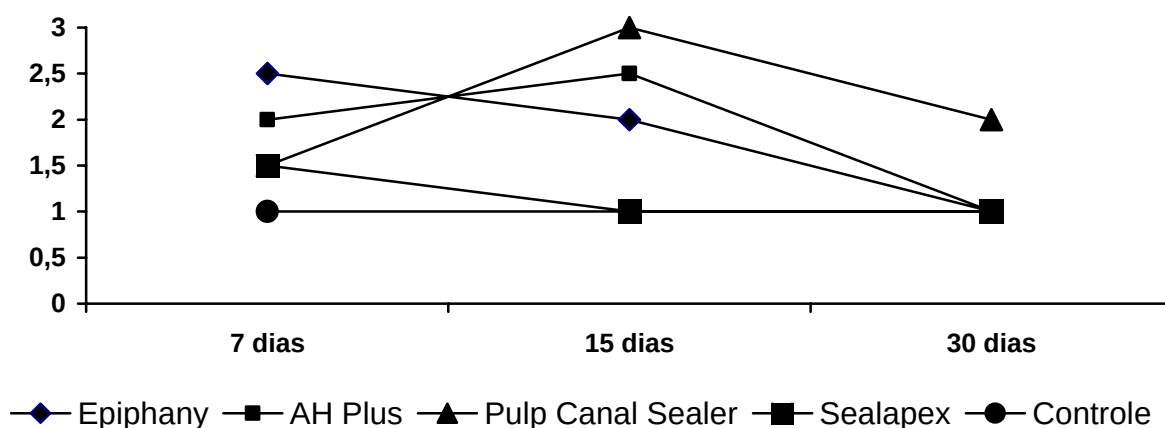


Gráfico 1 - Representação gráfica da espessura das cápsulas fibrosas observadas nos três tempos de análise, para todos os cimentos

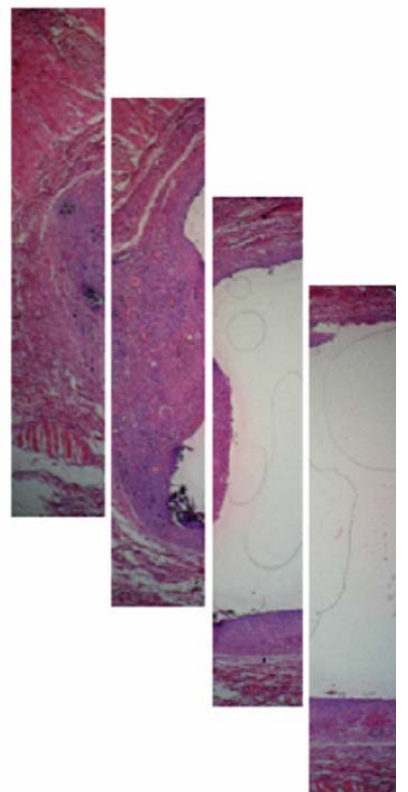


1= discreto; 1,5= discreto/moderado; 2= moderado; 2,5= moderado/intenso; 3= intenso

Representação gráfica da intensidade do infiltrado inflamatório observado nos três tempos de análise, para todos os cimentos.

DISCUSSÃO

DISCUSSÃO



6 DISCUSSÃO

6.1 CONCEPÇÃO

Havendo necessidade de conhecer melhor a composição química dos cimentos, suas propriedades físicas e biológicas para uma melhor indicação clínica, algumas questões surgem a esse respeito. Na busca de respostas observamos o grande número de pesquisas realizadas com os vários materiais disponíveis e poucos trabalhos comparativos entre cimentos com diferentes composições químicas. Considerando que os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol são amplamente utilizados, frequentemente são eleitos para comparação, selecionamos o Pulp Canal Sealer EWT; os dois cimentos resinosos utilizados no presente estudo, AH Plus e Epiphany, são cimentos atuais em ampla fase de pesquisas, e o cimento Sealapex, que recebeu recentemente uma alteração em sua composição química, despertou-nos grande interesse em verificar se esta alteração comprometeria suas propriedades biológicas estudadas anteriormente.

Encarando o desafio dispusemo-nos à realização de parte dessa tarefa visando compreender as reações biológicas envolvidas entre material endodôntico e tecido.

6.2 METODOLOGIA

Atualmente existem três etapas recomendadas para avaliação biológica de materiais endodônticos: os testes primários que fornecem um perfil de toxicidade geral do material, os testes secundários que avaliam a toxicidade local e, por fim, a indicação do teste, dependendo da utilização do material na terapia endodôntica.

A avaliação da biocompatibilidade de materiais endodônticos por meio da implantação em tecido subcutâneo de animais é considerada como um teste secundário pela ADA (Costa et al.³⁶ 2001, American Dental Association³⁸ 1972, Stanford³⁹ 1980) e FDI (Stanford³⁹ 1980, Stanley⁴⁰ 1992), foi idealizada por Dixon e Rickert⁴¹ (1933) e aperfeiçoada por Torneck⁴² (1966).

Sabe-se que após implantação de tubos de polietileno vazios em tecido subcutâneo do dorso de ratos ocorre reparo com formação de tecido fibroso e a inflamação não se apresenta persistente; outra vantagem da aplicação deste método é de permitir a implantação de materiais prontamente manipulados, diminuindo a difusão para os tecidos adjacentes dos componentes dos materiais, assim como a padronização do contato material/tecido por meio do diâmetro do tubo (Olsson et al.¹⁶1981). O diâmetro externo adotado pela metodologia podendo variar de 1,0 a 1,5mm, (Olsson et al.¹⁶1981, Zmener^{10,27}1988, 2004, Economides et al.¹²1995, Bilginer et al.²⁰ 1997, Costa et al.²² 2000) , permite segurança quanto ao extravasamento do material, ao mesmo tempo fornece uma adequada e padronizada área para análise histopatológica. Um dos motivos para utilizarmos uma das extremidades do tubo fechada é para minimizar o extravasamento de material, impedindo que se produza resposta em diferentes graus para o mesmo período experimental (Economides et al.¹²1995).

O problema de extravasamento de material poderia ser resolvido se o material fosse implantado depois de tomada a presa, mas isso iria eliminar a avaliação ocorrida de grande toxicidade antes da presa (Olsson et al.¹⁶ 1981). Alguns trabalhos demonstram a implantação de mais de um material estudado no mesmo animal; acreditamos que a execução cirúrgica nesses casos torna-se dificultada, uma vez que a divulsão dos tecidos para obtenção das bolsas de inserção não permite controle exato de amplitude e, dessa maneira, poderia haver contato entre os implantes, podendo levar a uma interação química entre os cimentos com diferentes composições; concordando com estas observações, optamos em fazer a implantação contra lateral dos tubos.

A implantação contra lateral do tubo vazio, com ambas as extremidades fechadas (controle), no mesmo animal que recebeu o tubo contendo o cimento, possibilitou maior credibilidade dos resultados quando comparamos àqueles onde o grupo controle é composto independentemente. Dessa maneira minimizamos as interferências nutritivas e sistêmicas que possam ocorrer entre animais em diferentes grupos (Spangberg⁴³ 1969).

Durante os procedimentos operatórios quando realizamos a incisão e divulsão dos tecidos objetivou-se minimizar a inconstância quanto ao tipo de tecido com o qual o material testado entraria em contato. Na maioria das vezes o material entra em contato com o tecido conjuntivo subcutâneo, mas, dependendo da profundidade de inserção, pode ser introduzido no plano muscular ou adiposo, havendo uma variação das reações teciduais quanto a este fato. A maioria dos espécimes apresentou feixes vâsculo-nervosos, o que nos confirma a padronização na profundidade de inserção dos implantes (Figura 8 – A).

A movimentação dos tubos é outro fator a ser considerado, pois pode haver resposta inflamatória devido a esta movimentação. Quando se observa uma cápsula fibrosa ao redor da parede lateral do tubo, pode-se deduzir que houve limitação de movimento, possibilitando o processo de reparo regular. Para maior controle da posição dos tubos, a divulsão foi realizada apenas do tamanho necessário para a implantação do tubo, sem que houvesse possibilidade de encostar a parte aberta do tubo, contendo o cimento, durante sua inserção. Os tubos de polietileno imitam as condições do canal radicular, visto que apenas na porção final do tubo, correspondente ao ápice radicular, o material entra em contato com os tecidos perirradiculares (Zmener et al.¹⁰1988).

Os animais mais utilizados para este tipo de metodologia são os camundongos, (Bilginer et al.²⁰1997, Silva et al.⁴1997), cobaias e ratos (Mittal et al.¹⁹1995, Görduysus et al.²¹1988, Costa et al.²²2000, Zmener et al.^{10,27}1988,2004, Economides et al.¹²1995, Olsson et al.¹⁶1981, Kaplan et al.⁵2003). Os ratos são mais calmos e de tamanhos que possibilitam uma adequada manipulação, utilizando volumes menores de medicamentos, como anestésicos, contudo, são maiores que os camundongos permitindo melhor manipulação para inserção dos implantes. A reprodução do rato em biotério permite maior controle na eliminação de fatores individuais como contaminação por microrganismos patogênicos bem como o exato tempo de vida, disponibilidade do número de amostras necessárias, cuidados com alimentação e higiene. O rato, por possuir um metabolismo mais acelerado, permite a obtenção de resultados num curto período de tempo (Andrade⁴⁴2002).

Na literatura não existe uma padronização quanto aos períodos de avaliação, a ADA sugere períodos que podem variar entre sete, dez, 21, 35 e 60 e 80 dias. Neste

estudo empregamos períodos experimentais de sete, 15 e 30 dias. Moretton et al.⁴⁵ (2000) ressaltaram que um mês de vida para o rato equivale a aproximadamente 30 meses (dois anos e meio) para o humano.

6.3 RESULTADOS

Os resultados deste trabalho foram baseados na análise histopatológica descritiva, o que sugere uma interpretação criteriosa, ainda que subjetiva. A quantificação da resposta tecidual é apenas possível em materiais que apresentem graus de irritabilidade muito distintos (Olsson et al.¹⁶1981). Baseados nesta afirmação e nos resultados obtidos aos 30 dias podemos considerar que as propriedades irritativas dos materiais empregados na pesquisa foram semelhantes, havendo uma resposta biológica aceitável.

Todos os cimentos utilizados neste estudo foram mais agressivos nos períodos iniciais de avaliação, no entanto, regrediram aos 30 dias, esta resposta inflamatória mais intensa inicialmente e mais discreta com o passar do tempo também foi demonstrada por outros autores (Economides et al.¹²1995, Kolokuris et al.⁴⁶ 1996, Olsson et al.¹⁶1981). A exceção ocorreu com o grupo contendo o cimento Sealapex que apresentou resposta inflamatória discreta em todos os períodos analisados.

Quando um cimento obturador entra em contato com a região apical pode haver reparo ou até mesmo a indução deste, desde que não haja um potencial de agressão, o que é o ideal para o restabelecimento da normalidade da região apical e periapical. Os materiais obturadores na sua maioria permitem um reparo associado a uma resposta inflamatória que pode ser mais ou menos persistente. O material utilizado na obturação do canal radicular é reconhecido pelo organismo como algo estranho. Os macrófagos e CGMIs, são células de atividade específica e de síntese de produtos excretados, norteadoras do processo de reparo (Kumar et al.⁴⁷ 2005).

É fundamental para se determinar a biocompatibilidade e propriedades biológicas dos cimentos obturadores que se avalie esta interface.

Neste trabalho não se planejou e não se aplicaram quantificações numéricas para os componentes do infiltrado inflamatório. Na avaliação da interação material obturador/tecido, a forma de distribuição e concentração destas células foi utilizada como parâmetro de análise.

A presença de CGMIs é uma forma de manutenção de macrófagos na área, ocorrendo a fusão de células jovens com células velhas, principalmente nas reações teciduais crônicas (Figura 8 - B). Uma vez que os achados referentes a esse tipo celular tenham sido no período inicial e não se mantiveram, julgamos ser um dado irrelevante, não sendo correlacionado à resposta inflamatória intensa, nesse caso. A importância biológica das CGMIs no processo inflamatório é muito controversa, atribuindo-se um papel de persistência celular no local, ou atividade fagocitária menos acentuada, quando comparados com macrófagos

A diferença na composição química, entre os cimentos, ocorre não apenas na forma de apresentação comercial do material, mas também e principalmente após sua presa, quando então permanece em contato com o tecido por longos períodos. A propriedade dos cimentos endodônticos em possuir a capacidade de reter ou liberar substâncias a partir de sua presa, pode estar relacionada com a propriedade de o material ser ou não fagocitável pelos leucócitos, principalmente pelos macrófagos.

Os resultados encontrados neste trabalho nos mostram que o cimento à base de óxido de zinco e eugenol, não apresentou um comportamento favorável no período de 15 dias, havendo presença de um infiltrado inflamatório intenso e cápsula espessa. Outrossim, os resultados encontrados para o Pulp Canal Sealer concordam com os obtidos em outros trabalhos (Figueiredo et al.²³ 2001, Mittal et al.¹⁹, Economides et al.¹² 1995), os quais encontraram uma ação mais irritante aos cimentos de óxido de zinco e eugenol de diferentes marcas comerciais. Não restam dúvidas de que o elemento irritante deste cimento é o eugenol, e que a maior ou menor resposta inflamatória depende da quantidade de eugenol adicionada no momento da sua manipulação (Holland, Souza¹⁴ 1971, Gulati et al.⁴⁸ 1991). O eugenol apresenta uma liberação de partículas mais rápida e intensa em ambientes úmidos, atingindo níveis tóxicos com facilidade após uma hora, permanecendo ativo nos tecidos por cerca de 100 horas. Muitas vezes seu potencial tóxico pode ser neutralizado por ligações com proteínas

plasmáticas, como as metaloproteinases, ou pelo cálcio, frequentemente presentes nos cimentos (Murphy⁴⁹, Orstavick⁵⁰ 1988).

A MMP-2 e MMP-9 são metaloproteinases importantes no processo inflamatório, ou seja, quanto maior a quantidade destas metaloproteinases, mais intenso será o processo inflamatório. Santos et al.⁵¹ (2004) demonstraram que o óxido de zinco age inibindo estas metaloproteinases.

Avaliando a relação pó-líquido sobre atividade antimicrobiana Ogata et al.⁵² (1984) concluíram que o cimento quando manipulado em uma consistência mais fluida apresenta melhores propriedades antimicrobianas. Este cimento, por não existir uma exata e definida proporção pó/líquido, apresenta um produto final com propriedades diferentes. Quanto menor a quantidade de eugenol menor a capacidade irritante, e, quanto maior a quantidade de óxido de zinco menor a reação inflamatória. A quantidade de pó inserida ao eugenol foi a maior possível, mantendo-se o padrão de escoamento exigido aos cimentos. A presença de um infiltrado inflamatório moderado aos 30 dias encontrado para o grupo do Pulp Canal Sealer, também foi observado por (Yesilsoy et al.¹¹ 1988 e Leonardo et al.⁵³ 1999).

A possível liberação do paraformaldeído, desvantagem dos cimentos à base de resina plástica, ocorre pela decomposição do hexametileno tetramina presente nestes cimentos. Porém nos trabalhos realizados por Leonardo et al.⁵⁴ 1999 e Economides et al.⁵⁵ 2004, demonstrou-se que dentre os cimentos resinosos avaliados, o AH Plus mostrou uma mínima concentração de derivados de aldeídos, podendo-se comparar aos nossos resultados onde o cimento AH Plus apresentou uma resposta inflamatória moderada no período inicial e discreta no período final de análise. O mesmo não ocorreu no trabalho realizado por Sousa et al.³¹(2006) onde mostraram características não biocompatíveis para o AH Plus, com reação inflamatória severa em todos os períodos experimentais.

O cimento endodôntico AH Plus é composto por duas pastas, baseado na polimerização da resina epoxi-amina. Economides et al.¹² (1995), Leonardo et al.⁵⁴ (1999) demonstraram resultados semelhantes aos nossos, com relação à intensidade do infiltrado inflamatório, utilizando o AH Plus, onde evidenciaram tecido mineralizado, múltiplas áreas com formação de cimento e osso alveolar.

O cimento Epiphany que é um cimento resinoso de presa dual apresentou resposta inflamatória moderada a intensa nos períodos de sete e 15 dias, não concordando com os resultados obtidos por Sousa et al.³¹(2006), demonstrando ótima resposta biológica em ambos os períodos experimentais, que foram baseados em Seux et al.⁵⁶(1991), que observaram alta liberação de cálcio tornando o meio alcalino acelerando o processo de reparo.

As reações inflamatórias observadas com o Sealapex mostraram-se discretas em todos os períodos de análise, o mesmo não foi encontrado por Valera et al.²⁸ (2004) que constataram uma reação inflamatória no período inicial havendo um aumento da severidade no período final. Holland e Sousa¹⁷(1985), Zmener et al.⁵⁷(1999) encontraram um aumento da resposta inflamatória com o aumento do período analisado somente quando houve um extravasamento de material para tecidos periapicais.

Os resultados demonstrados neste trabalho em relação aos tubos utilizados como controle concordam com os resultados encontrados por Valera et al.²⁸(2004) onde foi observada uma boa tolerância tecidual, formação de cápsula fibrosa e infiltrado inflamatório discreto, características de um tecido normal, servindo, portanto, como controle para nosso estudo.

Na análise das cápsulas fibrosas levou-se em consideração o número de camadas de células que as compunha, discordando dos estudos de Costa et al.²² (2000) que classificaram as cápsulas fibrosas de acordo com sua espessura, medidas em μm . A opção de análise utilizada neste estudo é justificada pela premissa de que camadas de células podem ser achatadas no processamento histológico, porém mantidas em seu número, o que não acontece com o mesmo tecido quando medido por espessura. Costa et al.²² (2000) observaram que os casos onde havia maior número de células inflamatórias, havia formação de cápsula fibrosa mais espessa e o grupo controle apresentou cápsula delgada, anuindo nossos resultados, onde observamos cápsula delgada no grupo controle e nos grupos onde o infiltrado inflamatório foi discreto.

Outro resultado demonstrado por (Costa et al.²² 2000) que concorda com nossos achados é de que os grupos de cimentos implantados no tecido conjuntivo

subcutâneo de ratos promoveram uma reação inflamatória moderada/severa aos sete dias, a qual diminuiu com o tempo.

Alguns tipos celulares caracterizam tipos específicos de inflamação, assim como os neutrófilos caracterizam uma inflamação aguda. A não observação de focos de PMNs nos leva a acreditar que os procedimentos operatórios não tiveram contaminação entre os tempos observados, o que seria caracterizado pela presença dessas células nos tempos posteriores.

Os eosinófilos são leucócitos presentes comumente em processos inflamatórios que tenham invasão microbiana, como fungos e parasitas. Uma vez que os animais experimentais não eram *germ free* haveria a possibilidade de haver uma contaminação orgânica onde se observaria a presença dessas células (Kumar et al.⁴⁷ 2005).

Os vasos sanguíneos não foram quantificados, mas observou-se angiogênese caracterizada pela neoformação vascular local (Figura 9 – E), o que demonstra uma reação tecidual favorável, significando que os animais estavam em situação biológica saudável.

O fenômeno vascular denominado hemorragia por rexe (Figuras 8–C e 9-E) é caracterizado pela saída de sangue dos vasos de forma descontrolada, abrupta, ocasionando a presença abundante de hemácias no tecido observado, dificultando a análise microscópica (Brasileiro Filho⁵⁸ 2000). Comumente esse fenômeno tem causas traumáticas e não pode ser confundido com hemorragias teciduais causadas por discrasias sanguíneas (Kumar et al.⁴⁷ 2005). Nos espécimes onde se observou a presença de rexe interpretou-se como sendo ocasionado quer por movimentação do tubo, quer por trauma sofrido entre os animais nas gaiolas.

O emprego do modelo experimental utilizado neste trabalho foi direcionado para analisar subjetivamente a resposta inflamatória dos cimentos e contribuiu por despertar interesse de que muitos fatores estão relacionados na interação dos cimentos endodônticos com os tecidos em que estes entram em contato.

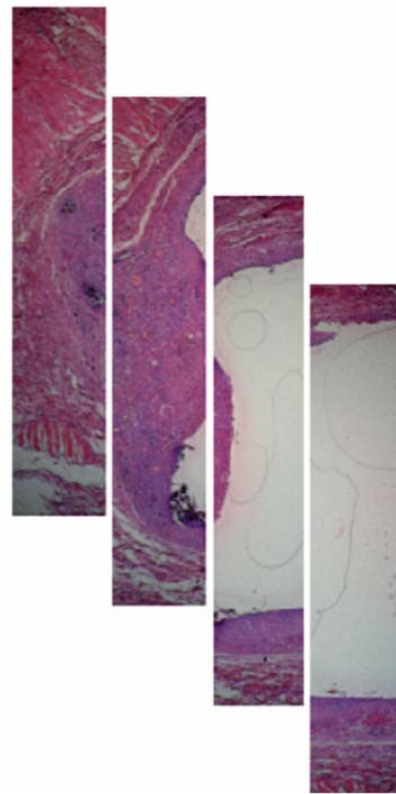
O estudo e conhecimento de diferentes cimentos endodônticos se fazem necessários, para que o clínico possa eleger o cimento com melhores propriedades adequando-o às suas necessidades.

6.4 Perspectivas

As respostas teciduais e celulares frente aos cimentos endodônticos precisam de explicações mais precisas e específicas. Trabalhos posteriores em busca de respostas para a ação de cada um dos componentes dos cimentos endodônticos e ainda das associações destes elementos com produtos derivados devem ser realizados. A interação de alguns produtos pode beneficiar biologicamente o cimento bem como melhorar suas propriedades físico-químicas. O estudo dos componentes dos cimentos endodônticos de forma individual ou associado em pequenos grupos, pode ser o caminho para se obter o cimento obturador mais próximo do ideal do ponto de vista biológico e físico-químico. Embora existam vários modelos experimentais, existem lacunas não respondidas com relação à interface tecido/cimento.

CONCLUSÃO

CONCLUSÃO



7 CONCLUSÃO

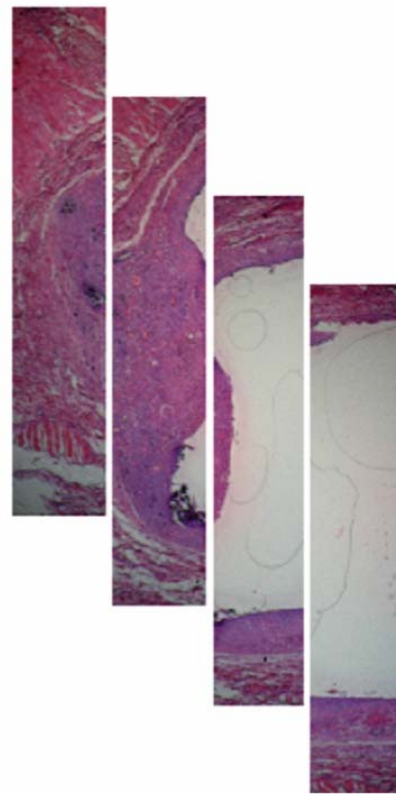
Considerando os resultados obtidos e a limitação da metodologia empregada, podemos concluir que:

- O Sealapex foi o cimento que apresentou resposta inflamatória mais discreta;
- O Pulp Canal Sealer foi o cimento que provocou as reações teciduais mais exacerbadas;
- Todos os cimentos apresentaram-se biologicamente aceitáveis com pequena variação entre si.

cias

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS



Referências

REFERÊNCIAS *

1. Carvalho-Júnior JR. Estudo comparativo entre o cimento obturador à base de ionômero de vidro e diferentes cimentos obturadores dos canais radiculares, quanto às propriedades físico-químicas [dissertação de mestrado] Ribeirão Preto : Faculdade de Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto; 2002.
2. Tanomaru Filho M, Duarte MAH, Tanomaru JMG. O que está mudando na obturação? In: Dib LL, Saddy MS, editors. Atualização clínica em odontologia. São Paulo: Artes Médicas; 2006. p. 33-87.
3. Leonardo MR. Endodontia: tratamento de canais radiculares: princípios técnicos e biológicos. São Paulo:Artes Médicas; 2005.
4. Silva BLA, Leonardo MR, Faccioli LH, Figueiredo F. Inflammatory response to calcium hydroxide based root canal sealers. J Endod. 1997;23:86-90.
5. Kaplan AE, Ormaechea MF, Picca M, Canzobre MC, Ubios AM. Rheological properties and biocompatibility of endodontic sealers. Internation Journal Endodontic 2003; 36:527-32.
6. Barbosa SV, Araki K, Spangberg LSW. Citotoxicity of some modified root canal sealers and their leach able components. Oral Surg. 1993;75:(3) 357-61.
7. Georgopoulou MK, Wu M-K, Nikolaou A, Wesselink PR. Efecct of thickness on the sealing ability of some root canal sealers. Oral Surgery,Oral Medicine,and Oral pathology. 1995;80:338-44.
8. Leonardo MR, Silva LAB, Almeida WA, Utrilla LS, Assed S, Ether SS. Calcium hydroxide root canal sealers – histopathologic evaluation of apical and periapical repair after endodontic treatment. J Endod. 1997;23:428-32.
9. Mitchell DF, Shankwalker GB. Osteogenic potential of calcium hydroxide and other materials in soft tissue and bone wounds. J Dent Res. 1958; 37(6):1157-63
10. Zmener O, Guglielmotti MB, Cabrini RL. Biocompatibility of two calcium hydroxide-based endodontic sealers: a quantitative study in the subcutaneous connective tissue of the rat. J Endod. 1988; 14(5): 229-35.
11. Yesilsoy C. a comparative tissue toxicity evaluation os established and newer root canal sealer. Oral Surg. 1988; 65(4);459-67.

* De acordo com as normas do programa de Mestrado em Odontologia da UEPG, baseada no modelo Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o medline.

Referências

12. Economides N, Kotsaki-Kovatsi VP, Pouloupoulos A, Kolokuris I, Rozos G, Shore R. Experimental Study of the biocompatibility of four root canal sealers and their influence on the zinc and calcium content of several tissues. J Endod. 1995 mar;(21):122-27.
13. Leonardo MR, Barnett F, Debelian GJ, Lima RKP, da Silva LAB. Root canal adhesive filling in dog's teeth with or without coronal restoration: A histopathological evaluation. J Endod. 2007;33(11):1299-1303
14. Holland R, Souza V. Estudo histológico do comportamento do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante de alguns materiais obturadores de canal radicular. Influência da proporção pó-líquido. Rev Ass Paul Cirurg Dent. 1971; 25(3):101-9.
15. Crane DL et al. Biological and physical properties of an experimental of root canal sealer without eugenol. J Endod. 1980;6(2):438-45.
16. Olsson BO, Sliwowski A, Langeland K. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. J Endod. 1981;7(8):355-69.
17. Holland R, Souza V. Ability of a new calcium hydroxide root canal filling material to induce hard tissue formation. J Endod. 1985;11(12):533-5.
18. Bergamini BGJ. Estudo da biocompatibilidade dos cimentos obturadores Sealer 26, Endomethasone e Fillcanal em subcutâneo de camundongos. [Monografia Especialização em Endodontia] Bauru Universidade de São Paulo;1988.
19. Mittal M, Chandra S, Chandra S. Comparative tissue toxicity evaluation of four endodontic sealers. J Endod. 1995; 21(12): 622-4.
20. Bilginer S, Esener T, Söylemezoglu F, Tiftik AM. The investigation of biocompatibility and apical microleakage of tricalcium phosphate based root canal sealers. J Endod. 1997; 23(2):105-9.
21. Görduysus MO, Etikan I, Gököz A. Histopathological evaluation of the tissue reactions to Endo-Fill root canal sealant and filling material in rats. J Endod. 1998;24(3):194-6.
22. Costa CAS, Teixeira HM, Nascimento ABL, Hebling J. Biocompatibility of two current adhesive resins. J Endod. 2000;26(9):512-16.
23. Figueiredo JAP, Pesce HF, Gioso MA, Figueiredo MAS. The histological effects of four endodontic sealers implanted in the oral mucosa: submucous injection versus implant in polyethylene tubes. Int Endod J. 2001;34:377-85.
24. Gomes-Filho JE, Gomes BPFA, Zaia AA, Novaes PD, Souza-Filho FJ. Glycol methacrylate: an alternative method for embedding subcutaneous implants. J Endod. 2001;27(4): 266-8

Referências

25. Schwarz T, Fiedler I, Leyhausen G, Geurtsen W. The cellular compatibility of five endodontic sealers during the setting period. *J Endod.* 2002;28(11):784-86.
26. Kim JS, Baek SH, Bae KS. In vivo study on the biocompatibility of newly developed calcium phosphate-based root canal sealers. *J Endod.* 2004;30(10): 708-11.
27. Zmener O. Tissue response to a new methacrylate-based root canal sealer: preliminary observation in the subcutaneous connective tissue of rats. *J Endod.* 2004;30(5):348-51.
28. Valera MC, Leonardo ML, Consolaro A, Matuda FS. Biological compatibility of some types of endodontic calcium hydroxide and glass ionomer cements. *J Appl Oral Sci.* 2004;12(4):294-300.
29. Zmener O, Banegas G, Pameijer CH. Bone tissue response to a methacrylate-based endodontic sealer: a histological and histometric study. *J Endod.* 2005;31(6): 457-9.
30. Kao CT, Tsai CH, Huang TH. Tissue and cell reactions to implanted root-end filling materials. *J Mater Sci Mater Med.* 2006; 17:841-47.
31. Sousa CJA, Montes CRM, Pascon EA, Loyola AM, Versiani MA. Comparison of the intraosseous biocompatibility of AH Plus, EndoRez, and Epiphany root canal sealers. *J Endod.* 2006;32(7): 656-62.
32. Veloso HHP, Santos RA, Araújo TP, Leonardi DP, Baratto Filho F. Histological analysis of the biocompatibility of three different calcium hydroxide-based root canal sealers. *J Appl Oral Sci.* 2006;14(5):376-81.
33. Gomes- Filho JE, Gomes BPFA, Zaia AA, Ferraz CR, Souza-Filho FJ. Evaluation of the biocompatibility of root canal sealers using subcutaneous implants. *J Appl Oral Sci.* 2007;15(3).
34. Zafalon EJ, Versiani MA, de Souza CJA, Moura CCG, Dechichi P. In vivo comparison of the biocompatibility of two root canal sealers implanted into the subcutaneous connective tissue of rats. *Oral Surg Oral Méd Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007;103(5):88-94.
35. Mezdari TJ, Tomáz VA, Amaral VL. Animais de laboratório: cuidados na experimentação animal. Florianópolis: UFSC;2004.
36. Costa CAS, Hebling J, Souza PPC. Testes de biocompatibilidade. In: Estrela, C. Metodologia científica: ensino e pesquisa em odontologia. São Paulo: Artes Médicas; 2001. Cap. 10, p. 161-194.
37. Michalany J. Técnica histológica em anatomia patológica: com instruções para o cirurgião, enfermeira e citotécnico. São Paulo; 1998.

Referências

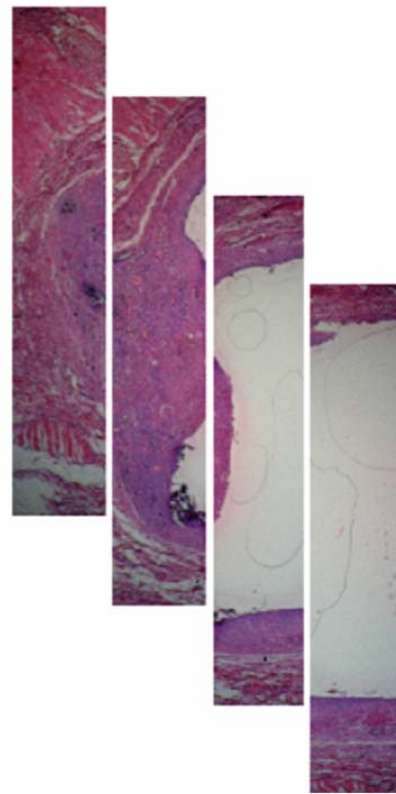
38. American Dental Association Council on dental materials and devices of the American Dental Association. J Amer Dent Assoc.1972;84:375-95.
39. Stanford Jw. Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. Int Endod J. 1980;30(2):140-88.
40. Stanley HR. Biological evaluation of dental material. Int Dent J.1992;42(1)
41. Dixon CM, Rickert UG. Tissue tolerance to foreign materials. Arch Oral Biol. 1933;20(8):1458-72..
42. Torneck CD. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. Oral Surg. 1966;21(3):379-87.
43. Spangberg L. Biologic effects of root filling materials. Experimental investigation of the toxicity of root canal filling materials "in vitro" and "in vivo". Odonto Revy. 1969;20:5-32.
44. Andrade A. Animais de laboratório criação e experimentação. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz;2002.
45. Moretton TR et al. Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of mineral trioxide aggregate and ethoxybenzoic acid cement. J Biom Mat Res. 2000;52(3):528-33
46. Kolokuris I, Beltes P, Economides N, Vlemmas I. Experimental study of the biocompatibility of a new glass-ionomer root canal sealer (Ketac-Endo). J Endod. 1996;22(8):395-98.
47. Kumar, Abbas, Fausto. Bases Patológicas das Doenças. 7ª ed. Local: Elsevier;2005.
48. Gulati N, Chandra S, Aggarwal PK, Kaiswal JN, Singh M. Cytotoxicity of eugenol in sealer containing zinc oxide. Endod Dent Traumatol. 1991;7:181-5.
49. Murphy WM. The testing of endodontic materials in vitro. Int.Endod J. 1988;21(2):170-7.
50. Orstavik D. Antibacterial properties of endodontic materials. Int.Endod J. 1988;1:161-9.
51. Santos MC et al. Inhibition of human pulpal gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by zinc oxide cements. J Oral Rehabil. 2004;31(7):660-4.
52. Ogata M, Leal JM, Miranda VC, Lofredo LCM. Cimentos endodônticos. Efeito da relação pó/líquido na ação antimicrobiana. RGO.1984;32(3):250-4.

Referências

53. Leonardo MR, Silva LAB, Almeida WA, Utrilla LS. Tissue response to na epoxy resin-based root canal sealer. Endod Dent traumatol. 1999;15:28-32
54. Leonardo MR, de Silva LAB, Filho MT, de Silva RS. Release of formaldehyde by 4 endodontic sealers. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1999;88:221-5.
55. Economides N, Kokorikos I, Panagiotis B, Gogos C. Comparative study of apical sealing ability of a new resin based root canal sealer. J Endod. 2004;30(6).
56. Seux D, Couble ML, Hartmann DJ, Gauthier JP, Magloire H. Odontoblast-like cyto-differentiation of human dental pulp *in vitro* in the presence of a calcium hydroxide-containing cement. Arch Oral Biol. 1991;36:117-28.
57. Zmener O, Guglielmotti MB, Cabrini RL. Tissue response to na experimental calcium hydroxide-based endodontic sealer: a quantitative study in subcutaneous conective tissue of rat. Endod Dent Traumatol. 1990;6:66-72.
58. Brasileiro Filho G. Bogliolo Patologia. Editora Guanabara Koogan S.A. 6ª edição 2000.

APÊNDICES

APÊNDICES



Apêndices A1 a A13 - Resultados originais da análise histológica

Apêndice A1 – Resultados de todos os grupos em todos os períodos G1= Epiphany; G2= AH Plus; G3= Pulp Canal Sealer; G4= Sealapex;; GC= Controle

			7 dias					15 dias					30 dias							
			G1	G2	G3	G4	GC	G1	G2	G3	G4	GC	G1	G2	G3	G4	GC			
Epitélio	Cápsula 1 (Delgada)		1	3	1	2	5	0	1	1	3	5	4	1	1	3	3			
	Cápsula 2 (Intermediária)		3	1	4	3	3	3	3	3	2	3	1	3	3	1	5			
	Cápsula 3 (Espessa)		1	1	0	0	0	2	1	1	0	0	0	1	1	1	0			
Tecido Conjuntivo	Constituição	Frouxo		3	5	4	5	6	4	5	4	5	7	4	4	4	5	6		
		Fibroso		2	0	1	0	2	1	0	1	0	1	1	1	1	0	2		
		Necrose		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		Feixe Nervoso		5/5	5/5	5/4	5/3	8/5	5/3	5/3	5/5	5/5	8/5	5/5	5/3	5/3	5/4	8/4		
		Vasos Sanguíneos		5/5	5/5	5/5	5/4	8/6	5/5	5/4	5/4	5/4	8/5	5/3	5/2	5/4	5/4	8/6		
		Rexe		5/2	5/0	5/2	5/1	0	5/3	5/1	5/3	5/1	8/2	0	0	5/1	0	8/2		
	Infiltrado Inflamatório	Severidade	Discreto		0	0	3	3	5	1	0	0	3	7	4	4	2	3	6	
			Moderado		3	4	2	2	2	3	2	1	1	1	1	1	3	2	2	
			Intenso		2	1	0	0	1	1	3	4	1	0	0	0	0	0	0	
		Composição	PMN	Neutrófilos		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
				Eosinófilos		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			MN	Linfócitos		5/3	5/5	5/3	5/2	7/3	5/3	5/3	5/4	5/5	8/3	5/3	5/1	5/2	5/3	8/3
				Macrófagos		5/5	5/5	5/5	5/5	7/7	5/5	5/5	5/5	5/5	8/8	5/2	5/3	5/3	5/2	8/6
		Plasmócitos		5/3	5/5	5/3	5/2	7/3	5/3	5/3	5/4	5/5	8/3	5/3	5/1	5/2	5/3	8/4		
Outros		CGM		2/5	1/5	0	1/5	0	0	1/5	0	0	0	0	0	0	0			

Apêndice A2 – Resultados obtidos na leitura para o cimento Epiphany aos 7 dias

EPIPHANY				7 dias								
				1	2	3	4	5	C	C		
Epitélio		Cápsula delgada			X							
		Cápsula intermediária		X		X		X	X	X		
		Cápsula espessa					X					
Tecido Conjuntivo	Composição	Frouxo		X	X	X			X	X		
		Fibroso					X	X				
		Necrose										
		Feixe Nervoso		X	X	X	X	X	X			
		Vasos Sangüíneos		XX	X	X	XX	XX	XX	X		
		Rexe				X	X					
	Infiltrado Inflamatório	Severidade		Discreto								
				Moderado		X	X			X	X	
				Intenso				X	X			
		Composição	PMN	Neutrófilos								
				Eosinófilos								
			MN	Linfócitos			X	X		X	X	
				Macrófagos		X	X	X	X	X	X	X
	Plasmócitos				X	X		X	X			
	Outros		CGMI									

Apêndice A3 – Resultados obtidos na leitura para o cimento Epiphany aos 15 dias

EPIPHANY				15 dias									
				1	2	3	4	5	C	C			
Epitélio		Cápsula delgada								X			
		Cápsula intermediária		X		X	X				X		
		Cápsula espessa			X			X					
Tecido Conjuntivo	Composição	Frouxo		X		X	X	X		X			
		Fibroso			X						X		
		Necrose											
		Feixe Nervoso			X	X	X			X	X		
		Vasos Sangüíneos		X	XXX	XX	XX	X		XX			
		Rexe			X	X	XX			X			
	Infiltrado Inflamatório	Severidade		Discreto						X	X	X	
				Moderado		X		X	X				
				Intenso			X						
		Composição	PMN	Neutrófilos									
				Eosinófilos									
			MN	Linfócitos		X	X		X				
				Macrófagos		X	X	X	X	X		X	X
				Plasmócitos		X	X		X				
Outros	CGMI												

Apêndice A4 – Resultados obtidos na leitura para o cimento Epiphany aos 30 dias

EPIPHANY				30 dias								
				1	2	3	4	5	C	C		
Epitélio	Cápsula delgada				X	X	X	X	X	X		
	Cápsula intermediária			X								
	Cápsula espessa											
Tecido Conjuntivo	Composição	Frouxo		X	X		X	X	X	X		
		Fibroso				X						
		Necrose										
		Feixe Nervoso		X	X	X	X	X		X		
		Vasos Sangüíneos		XX	X	X	X			X		
		Rexe										
	Infiltrado Inflamatório	Severidade	Discreto		X	X		X	X	X		
			Moderado				X				X	
			Intenso									
		Composição	PMN	Neutrófilos								
				Eosinófilos								
			MN	Linfócitos		X	X		X		X	X
				Macrófagos		X	X	X	X	X	X	X
				Plasmócitos		X	X		X		X	X
Outros	CGMI											

Apêndice A5 – Resultados obtidos na leitura para o cimento AH Plus aos 7 dias

AH Plus				7 dias								
				1	2	3	4	5	C	C		
Epitélio	Cápsula delgada				X		X	X	X	X		
	Cápsula intermediária			X								
	Cápsula espessa					X						
Tecido Conjuntivo	Composição	Frouxo		X	X	X	X	X	X	X		
		Fibroso										
		Necrose										
		Feixe Nervoso		X	X	X	X	X	X	X		
		Vasos Sangüíneos		XX	X	XX	XX	X	X	X		
		Rexe										
	Infiltrado Inflamatório	Severidade	Discreto							X	X	
			Moderado		X		X	X	X			
			Intenso			X						
		Composição	PMN	Neutrófilos								
				Eosinófilos								
			MN	Linfócitos		X	X	X	X	X		
				Macrófagos		X	X	X	X	X	X	X
	Plasmócitos			X	X	X	X	X				
Outros	CGMI				X							

Apêndice A6 – Resultados obtidos na leitura para o cimento AH Plus aos 15 dias

AH Plus				15 dias								
				1	2	3	4	5	C	C		
Epitélio		Cápsula delgada				X				X		
		Cápsula intermediária		X	X		X		X			
		Cápsula espessa						X				
Tecido Conjuntivo	Composição	Frouxo		X	X	X	X	X	X	X		
		Fibroso										
		Necrose										
		Feixe Nervoso			X		X	X	X	X		
		Vasos Sanguíneos		XX	X	XX	X		X	X		
		Rexe					X			X		
	Infiltrado Inflamatório	Severidade		Discreto					X	X		
				Moderado	X				X			
				Intenso		X	X	X				
		Composição	PMN	Neutrófilos								
				Eosinófilos								
			MN	Linfócitos			X	X		X	X	X
				Macrófagos		X	X	X	X	X	X	X
	Plasmócitos				X	X		X	X	X		
Outros		CGMI		X								

Apêndice A7 – Resultados obtidos na leitura para o cimento AH Plus aos 30 dias

AH Plus				30 dias								
				1	2	3	4	5	C	C		
Epitélio		Cápsula delgada		X					X			
		Cápsula intermediária			X	X		X		X		
		Cápsula espessa					X					
Tecido Conjuntivo	Composição	Frouxo		X	X	X		X	X	X		
		Fibroso					X					
		Necrose										
		Feixe Nervoso		X	X		X		X	X		
		Vasos Sanguíneos			X	X			X	X		
		Rexe										
	Infiltrado Inflamatório	Severidade		Discreto	X	X	X		X	X		
				Moderado				X			X	
				Intenso								
		Composição	PMN	Neutrófilos								
				Eosinófilos								
			MN	Linfócitos				X		X	X	X
				Macrófagos		X	X	X	X	X	X	X
				Plasmócitos				X		X	X	X
Outros	CGMI											

Apêndice A8 – Resultados obtidos na leitura para o cimento Pulp Canal Sealer aos 7 dias

Pulp Canal Sealer				7 dias								
				1	2	3	4	5	C	C		
Epitélio		Cápsula delgada			X					X		
		Cápsula intermediária		X		X	X	X	X			
		Cápsula espessa										
Tecido Conjuntivo	Composição	Frouxo		X	X	X	X		X	X		
		Fibroso						X				
		Necrose										
		Feixe Nervoso		X		X	X	X	X			
		Vasos Sanguíneos		X	XX	X	X	XX	X	X		
		Rexe			X			X		X		
	Infiltrado Inflamatório	Severidade	Discreto			X	X		X	X	X	
			Moderado		X			X				
			Intenso									
		Composição	PMN	Neutrófilos								
				Eosinófilos								
			MN	Linfócitos		X		X		X		
				Macrófagos		X	X	X	X	X	X	X
	Plasmócitos			X		X		X				
Outros		CGMI										

Apêndice A9 – Resultados obtidos na leitura para o cimento Pulp Canal Sealer aos 15 dias

Pulp Canal Sealer				15 dias								
				1	2	3	4	5	C	C		
Epitélio		Cápsula delgada		X					X	X		
		Cápsula intermediária			X	X		X				
		Cápsula espessa					X					
Tecido Conjuntivo	Composição	Frouxo			X	X	X	X	X	X		
		Fibroso		X								
		Necrose										
		Feixe Nervoso		X	X	X	X	X	X			
		Vasos Sanguíneos		X	X	XX		X		X		
		Rexe			X	X	X			X		
	Infiltrado Inflamatório	Severidade		Discreto						X		
				Moderado			X			X		
				Intenso	X	X		X	X			
		Composição	PMN	Neutrófilos								
				Eosinófilos								
			MN	Linfócitos		X	X	X	X			X
				Macrófagos		X	X	X	X	X	X	X
				Plasmócitos		X	X	X	X			X
Outros	CGMI											

Apêndice A10 – Resultados obtidos na leitura para o cimento Pulp Canal Sealer aos 30 dias

Pulp Canal Sealer				30 dias							
				1	2	3	4	5	C	C	
Epitélio	Cápsula delgada			X							
	Cápsula intermediária				X	X	X		X	X	
	Cápsula espessa							X			
Tecido Conjuntivo	Composição	Frouxo		X	X		X	X	X	X	
		Fibroso				X					
		Necrose									
		Feixe Nervoso		X		X	X		X	X	
		Vasos Sanguíneos			X	X	XX	XX	X		
		Rexe				X					
	Infiltrado Inflamatório	Severidade		Discreto			X				X
				Moderado	X	X		X	X	X	
				Intenso							
		Composição	PMN	Neutrófilos							
				Eosinófilos							
			MN	Linfócitos	X		X	X			
				Macrófagos	X	X	X	X	X		
	Plasmócitos	X			X	X					
Outros	CGMI										

Apêndice A11 – Resultados obtidos na leitura para o cimento Sealapex aos 7 dias

Sealapex				7 dias							
				1	2	3	4	5	C	C	
Epitélio	Cápsula delgada			X			X		X	X	
	Cápsula intermediária				X	X		X			
	Cápsula espessa										
Tecido Conjuntivo	Composição	Frouxo			X	X	X	X	X	X	X
		Fibroso									
		Necrose									
		Feixe Nervoso			X	X			X	X	X
		Vasos Sanguíneos			XXX		X	X	XX	XX	X
		Rexe			X						
	Infiltrado Inflamatório	Severidade		Discreto	X	X		X			X
				Moderado			X		X	X	
				Intenso							
		Composição	PMN	Neutrófilos							
				Eosinófilos							
		MN	Linfócitos	X		X		X	X	X	
			Macrófagos	X	X	X	X	X	X	X	
			Plasmócitos	X		X		X	X	X	
Outros	CGMI					X					

Apêndice A12 – Resultados obtidos na leitura para o cimento Sealapex aos 15 dias

Sealapex				15 dias								
				1	2	3	4	5	C	C		
Epitélio		Cápsula delgada		X	X		X		X			
		Cápsula intermediária				X		X		X		
		Cápsula espessa										
Tecido Conjuntivo	Composição	Frouxo		X	X	X	X	X	X	X		
		Fibroso										
		Necrose										
		Feixe Nervoso		X	X	X	X	X		X		
		Vasos Sanguíneos		X	X	X	X		X	X		
		Rexe			X							
	Infiltrado Inflamatório	Severidade		Discreto	X			X	X	X	X	
				Moderado		X						
				Intenso			X					
		Composição	PMN	Neutrófilos								
				Eosinófilos								
			MN	Linfócitos		X	X	X	X			X
				Macrófagos		X	X	X	X	X	X	X
				Plasmócitos		X	X	X	X			X
	Outros		CGMI									

Apêndice A13 – Resultados obtidos na leitura para o cimento Sealapex aos 30 dias

Sealapex				30 dias								
				1	2	3	4	5	C	C		
Epitélio	Cápsula delgada			X	X			X				
	Cápsula intermediária						X		X	X		
	Cápsula espessa					X						
Tecido Conjuntivo	Composição	Frouxo		X	X	X	X	X	X			
		Fibroso										
		Necrose										
		Feixe Nervoso		X	X	X		X	X	X	X	
		Vasos Sanguíneos		X	X		X	X				
		Rexe										
	Infiltrado Inflamatório	Severidade		Discreto	X			X	X	X	X	
				Moderado		X	X					
				Intenso								
		Composição	PMN	Neutrófilos								
				Eosinófilos								
			MN	Linfócitos		X	X			X	X	X
				Macrófagos		X	X	X	X	X	X	X
				Plasmócitos		X	X			X	X	X
	Outros	CGMI										