UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

NATASHA SIQUEIRA FIDELIS

**Avaliação da reação tecidual
frente aos cimentos MTA Branco
Angelus®, MTA Bio e Sealepox RP.
Estudo microscópico em tecido
subcutâneo de ratos**

BAURU
2009

NATASHA SIQUEIRA FIDELIS

**Avaliação da reação tecidual
frente aos cimentos MTA Branco Angelus®,
MTA Bio e Sealepox RP. Estudo
microscópico em tecido subcutâneo de ratos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas Aplicadas, área de concentração de Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Brandão Garcia

BAURU

2009

Fidelis, Natasha Siqueira

F448a Avaliação da reação tecidual frente aos cimentos MTA Branco Angelus®, MTA Bio e Sealepox RP. Estudo microscópico em tecido subcutâneo de ratos/

Natasha Siqueira Fidelis -- Bauru, 2009.

197 p.: il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Brandão Garcia

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura do autor: _____

Data: ____/____/____

Comitê de Ética da FOB – USP
Protocolo nº: 025/2007
Data: 10 de dezembro de 2007

DADOS CURRICULARES

NATASHA SIQUEIRA FIDELIS

Nascimento	12 de agosto de 1983 Birigui- SP
Filiação	Carlos Roberto Fidelis Teresa Cristina de Abreu Siqueira
2002-2006	Graduação em Odontologia na Faculdade de Odontologia de Araçatuba; Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP Araçatuba- SP
2006	Curso de Atualização em Endodontia. Universidade Estadual de Campinas/ UNICAMP Piracicaba – SP
2007-2009	Curso de Pós-Graduação em Endodontia, nível de mestrado, na Faculdade de Odontologia de Bauru; Universidade de São Paulo/ USP

Dedicatória

Dedicatória

A ***Deus***, pela vida abençoada que me deste, por todas as pessoas maravilhosas que me acompanham nesta caminhada, por minha saúde, por meus pais, meus irmãos, meus avós, meu namorado, meus amigos, enfim pela benção de ter tudo o que preciso para ser muito feliz. A certeza de Sua presença conforta meu espírito.

“O senho é meu pastor, nada me faltará”

(Salmo 23, Bíblia Sagrada)

Ao meu pai, ***Carlos Roberto***, por todos os ensinamentos que aprendi com você, por estar ao meu lado me apoiando em todas as etapas de minha vida, por sua dedicação e amor, por nunca ter exitado em estender sua mão quando precisei, pelas lições de caráter que sempre me mostrou, por ser tudo o que eu desejo ser um dia... Pai, amo você incondicionalmente!

A você dedico esse trabalho realizado com muito amor e satisfação.

“Não se mede o valor de um homem pelas suas roupas ou pelos bens que possui, o verdadeiro valor do homem é o seu caráter, suas idéias e a nobreza dos seus ideais.”

(Charles Chaplín)

Agradecimentos

Agradecimentos

“Nenhum dever é mais importante do que a gratidão.”

(Cícero)

Aos meus avós paternos **Clotilde** e **Antônio (Vô Nico)** (in memorian), por todo o amor e por toda a atenção que sempre deram a mim e a minha irmã. Vocês nos ensinaram a importância de uma família quando abandonaram muitas coisas para nos estender suas mãos e nos amparar. Muito obrigada por tudo o que vocês nos proporcionaram e pela nossa indescritível oportunidade de ter convivido ao lado de vocês. Vó Clô, obrigada por seu amor de mãe! Amo demais vocês!

A minha mãe **Teresa Cristina**, que mesmo muitas vezes ausente e distante não deixa de estar todos os dias em meus pensamentos. Mãe, lamentarei eternamente por todos os momentos que não pude passar ao seu lado. Você faz falta na minha vida! Amo-te!

“O tempo não pára! Só a saudade é que faz as coisas pararem no tempo...”

(Mário Quintana)

A minha irmã **Bianca**, por ter sido minha companheira em momentos alegres e tristes. Você é um vínculo muito forte com meu passado. Bezi, que Deus ilumine sempre sua vida, que você seja muito feliz e que nunca se esqueça que sou uma pessoa que te apoiará e te defenderá sempre. Ao meu irmão **Bruno**, por ser um anjinho lindo que faz parte de nossas vidas. Bubui, que sua vida, que está apenas começando, seja sempre iluminada e abençoada. Vocês são meus amores!!!

Aos meus avós maternos *Jacilda e Rodolfo*, pelo carinho e amor que tem por mim. Apesar da distância saiba que vocês moram em meu coração.

Ao meu namorado *William*, por todo o amor e carinho e por sempre estar presente me ajudando. Obrigada por toda a força nesta etapa de minha vida, por toda a compreensão nos momentos em que mais precisava disso. Você é o companheiro que quero ao meu lado para dividir todas as minhas alegrias e tristezas. Wi, te amo!!!

A minha grande amiga *Sílvia*, por ter entrado em minha vida e ter se transformado em uma pessoa tão especial. Obrigada por fazer parte de minha caminhada. Que Deus abençoe sua vida e te conserve esse doce de pessoa que você é.

A *Dona Lourdes e Sr. Flávio*, por sempre terem me recebido de braços abertos. Vocês são para mim exemplos de integridade e bondade.

“...Procure os seus caminhos,
mas não magoe ninguém nessa procura.
Arrependa-se, volte atrás, peça perdão!
Não se acostume com o que não o faz feliz,
revolte-se quando julgar necessário.

Alague seu coração de esperanças,
mas não deixe que ele se afogue nelas.

Se achar que precisa voltar, volte!
Se perceber que precisa seguir, siga!
Se estiver tudo errado, comece novamente.

Se estiver tudo certo, continue.

Se sentir saudades, mate-a.

Se perder um amor, não se perca!

Se achá-lo, segure-o!

Circunda-te de rosas,

ama, bebe e cala.

O mais é nada".

(Fernando Pessoa)

Ao meu professor e orientador *Dr. Roberto Brandão Garcia*, pela oportunidade de realizar o curso de Mestrado na Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, tendo-o como meu orientador. Por ser sempre tão paciente e solícito, tão humano e íntegro. Pelo seu grande exemplo de dedicação, por sempre ser tão educado e atencioso. Sua dedicação à Endodontia é uma lição que quero levar comigo para sempre. Receba meus mais sinceros agradecimentos!

Aos professores da disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, doutores *Clovis Monteiro Bramante, Ivaldo Gomes de Moraes e Norberti Bernadineli*, pelos conhecimentos adquiridos, pela oportunidade de crescer profissionalmente e pessoalmente, e por todo o respeito e consideração com os quais sempre me trataram. Muito obrigada!

Ao professor *Dr. Rumio Taga*, por ter aceitado a realização da parte laboratorial deste estudo nas instalações da disciplina de Histologia.

Ao professor *Dr. Gerson Francisco de Assis*, pela orientação dada para a avaliação morfométrica das lâminas histológicas deste experimento. E por todo auxílio dado, sempre disposto a esclarecer minhas dúvidas.

A todos os professores e funcionários da disciplina de Histologia, por toda a atenção e apoio que recebi e, principalmente, à *Daniele Santi Ceolin, Patrícia de Sá Montagua Germino e Tânia Mary Cestari* pelas orientações que me deram, sempre com muita gentileza.

Ao professor *Dr. José Roberto Pereira Lauris* pelo tempo, orientações e ajuda na análise estatística.

Aos meus professores de Endodontia da FOA-UNESP, *Prof. Dr. Mauro Juvenal Nery, Prof. Dr. Eloi Dezan Júnior, Prof. Der. José Arlindo Otoboni Filho e*, especialmente, aos *Prof. Dr. João Eduardo Gomes Filho e Prof. Dr. Pedro Felício Estrada Bernabé* pelos ensinamentos transmitidos durante minha Graduação. Vocês são referências a serem seguidas, são amigos sempre dispostos a ajudar. Muito obrigada por tudo!

Aos colegas de mestrado, *Ericson, Fabiana, Marcela, Melina, Paulo e Rodrigo* pela amizade e companhia nessa etapa de nossas vidas. Compartilhamos muitos momentos, que, com certeza, ficarão guardados para sempre comigo. Ao amigo *Ronald* por suas palavras de amizade e bons momentos que dividimos em nossas vidas. Meu especial agradecimento a amiga *Tati* que compartilhou comigo todas as grandes emoções geradas pelo mestrado. Você foi uma companheira que me deu muita força, sua presença tornou meus dias em Bauru mais agradáveis. Desejo a você todo o sucesso que desejar e quero estar sempre por perto para poder aplaudir suas conquistas. Obrigada por tudo!

Aos colegas do doutorado, *Augusto, Fernando, Livia, Bethania e Ronan* pela amizade e ajuda durante o mestrado.

Aos funcionários do Biotério da FOB-USP, *Luiz Carlos da Silva, Erasmo*

Gonçalves da Silva e Richard Nelson Guanaes Simões, pela disponibilidade, ajuda, total atenção durante os procedimentos laboratoriais e cuidados com os animais utilizados neste trabalho.

Aos meus *amigos de Birigui e Araçatuba*, pela amizade de tantos anos, por sempre me incentivarem e torcerem por mim. Com vocês, encontrei uma amizade para vida inteira!

Aos funcionários do departamento de Endodontia - *D. Neide, Suely, Patrícia, Edimauro e Cleide* - pela convivência harmoniosa e pela disposição em ajudar durante todo esse tempo.

Muito obrigada a todos!

Agradecimentos Institucionais

À Faculdade de Odontologia de Bauru, da Universidade de São Paulo, na pessoa do Diretor, *Prof. Dr. Luiz Fernando Pegoraro*, e em especial à Disciplina de Endodontia desta faculdade.

À Comissão de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Bauru, na pessoa da Presidente, *Profª Drª Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado*.

Ao setor de Biblioteca e Documentação da FOB-USP por todo apoio e presteza durante a elaboração desta pesquisa.

Ao *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq* - pelo apoio financeiro fornecido para a elaboração e concretização deste estudo.

Resumo

RESUMO

Biocompatibilidade é uma das principais propriedades que um cimento retrobturador deve possuir, para não provocar no hospedeiro reações tóxica e imunopatológica. Desta forma, a sucessão de experimentos que comprovem tal propriedade, é fundamental para o uso clínico desse material. O objetivo deste estudo foi comparar a reação tecidual frente ao MTA Branco Angelus®, MTA Bio Ângelus® e Sealepox RP. Para isso, foram utilizados 54 ratos Wistar albinos, que foram divididos em 3 grupos iguais. Os materiais foram implantados no tecido subcutâneo do dorso desses animais, dentro de tubos de polietileno. Como controle, todos os tubos tiveram uma de suas extremidades seladas com guta-percha. Os períodos experimentais analisados foram de 15, 30 e 60 dias após o procedimento cirúrgico, quando, então, os animais foram mortos. As amostras coletadas passaram pelo processamento histotécnico e foram feitos cortes de 5µm de espessura e coloração com hematoxilina e eosina. Os dados obtidos após a análise morfométrica foram submetidos à análise de variância a dois critérios (ANOVA) e teste de Kruskal-Wallis para comparação; a significância foi para $p < 0,05$. Os resultados demonstraram que em todos os grupos e períodos houve um padrão de comportamento da reação inflamatória, ou seja, aos 15 dias havia uma densidade de volume de células inflamatórias maior, que foi decrescendo com o passar do tempo. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os materiais com relação a densidade de volume de células inflamatórias observadas. Com base na metodologia empregada e levando em conta suas limitações, pode-se concluir que todos os materiais testados são biocompatíveis.

Palavras-chave: Endodontia. Teste de materiais. Agregado trióxido mineral.

Abstract

ABSTRACT

REACTIONS OF CONNECTIVE TISSUE TO MTA WHITE ANGELUS®, MTA BIO AND SEALEPOX RP

Biocompatibility is one of the most important properties that a root-end filling material might have. Thus, experiments that prove this characteristic are very important. The purpose of this study was to compare the connective tissue reaction caused by MTA White Angelus, MTA Bio and Sealepox RP. Fifty-four Wistar albino rats were divided in three equal groups. The materials were implanted in subcutaneous connective tissue of the animals, into polyethylene tubes. As control group, gutta-percha was placed in one of the tube's border. The rats were sacrificed after 15, 30 and 60 days. Histologic samples were sectioned in 5µm thickness and stained with hematoxylin and eosin. ANOVA and Kruskal-Wallis tests were used for statistical analysis ($p < 0,05$). The results showed that in all groups there was a standard result on the inflammatory infiltrate observed. The 15 days period showed a more severe response, which has been diminishing over time. There was no statistically significant difference between the materials with respect to the volume density of inflammatory cells observed. Based on the methodology used and taking into account its limitations, it can be concluded that all materials are biocompatible.

Keywords: Endodontics. Biocompatibility. Connective tissue. Mineral trioxide aggregate.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- MTA Branco Angelus®.....	116
Figura 2- MTA Bio Angelus®.....	116
Figura 3- Sealepox RP (experimental).	117
Figura 4- Tubos de polietileno fechados com guta-percha em uma das extremidades.....	117
Figura 5- Dopalen® (Cloridrato de Ketamina) e Calmiun® (Cloridrato de Xilazina).	118
Figura 6- Anestesia intramuscular na face posterior da coxa traseira.....	121
Figura 7- Tricotomia da região dorsal.....	121
Figura 8- Antissepsia com PVPI.	121
Figura 9- Preparação do cimento.	122
Figura 10- Preenchimento do tubo de polietileno com calcador.....	122
Figura 11- Incisão mediana no dorso do animal.....	122
Figura 12- Divulsão dos tecidos com tesoura de ponta romba.....	123
Figura 13- Trocarte no momento da implantação do tubo.....	123
Figura 14- Localização dos tubos de polietileno.....	123
Figura 15- Sutura da incisão.	123
Figura 16- Graticulo de integração II Zeiss sobre a imagem de um corte histológico	127
Figura 17- Estrutura capsular do tubo de polietileno implantado (x2,5)	133
Figura 18- Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo MTA Branco Angelus® aos 15 dias (X40).....	133
Figura 19- Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo MTA Bio Angelus® aos 15 dias (X40).....	135
Figura 20- Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Sealepox RP aos 15 dias (X40)	135

Figura 21- Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pela Guta-percha (controle) aos 15 dias (X40)	137
Figura 22- Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo MTA Branco Angelus® aos 30 dias (X40).....	141
Figura 23- Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo MTA Bio Angelus® aos 30 dias (X40).....	141
Figura 24- Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Sealepox RP aos 30 dias (X40)	143
Figura 25- Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pela Guta-percha (controle) aos 30 dias (X40)	143
Figura 26- Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo MTA Branco Angelus® aos 60 dias (X40).....	147
Figura 27- Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo MTA Bio Angelus® aos 60 dias (X40).....	147
Figura 28- Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Sealepox RP aos 60 dias (X40)	149
Figura 29- Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pela Guta-percha (controle) aos 60 dias (X40)	149

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Densidade de volume (%) das fibras colágenas presentes no tecido conjuntivo capsular reacional adjacente à superfície dos materiais implantados.	156
Gráfico 2- Densidade de volume (%) dos fibroblastos presentes no tecido conjuntivo capsular reacional adjacente à superfície dos materiais implantados.	156
Gráfico 3- Densidade de volume (%) dos vasos sanguíneos presentes no tecido conjuntivo capsular reacional adjacente à superfície dos materiais implantados.	157
Gráfico 4- Densidade de volume (%) das células inflamatórias presentes no tecido conjuntivo capsular reacional adjacente à superfície dos materiais implantados.	157
Gráfico 5- Densidade de volume (%) das demais estruturas presentes no tecido conjuntivo capsular reacional adjacente à superfície dos materiais implantados.	158

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos grupos, cimentos e períodos experimentais.	116
Tabela 2 - Média e desvio padrão da densidade de volume (%) de fibras colágenas, fibroblastos, vasos sanguíneos, células inflamatórias e de outras estruturas encontradas no tecido conjuntivo capsular reacional adjacente à superfície dos materiais implantados nos três períodos de avaliação.....	152
Tabela 3 - Comparação entre os grupos no período de 15 dias quanto aos critérios estabelecidos para a morfometria.....	153
Tabela 4 - Comparação entre os grupos no período de 30 dias quanto aos critérios estabelecidos para a morfometria.....	153
Tabela 5 - Comparação entre os grupos no período de 60 dias quanto aos critérios estabelecidos para a morfometria.....	154
Tabela 6 - Comparação entre os períodos para o Grupo 1 (MTA Branco Angelus®) quanto aos critérios estabelecidos para a morfometria.....	154
Tabela 7 - Comparação entre os períodos para o Grupo 2 (MTA Bio Angelus®) quanto aos critérios estabelecidos para a morfometria.....	155
Tabela 8 - Comparação entre os períodos para o Grupo 3 (Sealepox RP) quanto aos critérios estabelecidos para a morfometria.....	155
Tabela 9 - Comparação entre os períodos para o Grupo 4 (Controle) quanto aos critérios estabelecidos para a morfometria.....	155

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	49
2 REVISÃO DA LITERATURA	57
2.1 AGREGADO DE TRIÓXIDO MINERAL (MTA):.....	57
2.2 Sealepox RP:	100
3 PROPOSIÇÃO	107
4 MATERIAL E MÉTODOS	111
4.1. MATERIAIS	111
4.1.1. ANIMAIS.....	111
4.1.2 CIMENTOS	111
4.1.2.1 MTA Branco Angelus®	112
4.1.2.2. MTA Bio Angelus®	113
4.1.2.3. Sealepox RP	114
4.1.3 TUBOS DE POLIETILENO.....	115
4.1.4 ANESTESIA	115
4.1.5 GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	115
4.2 MÉTODOS	119
4.2.1. PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS	119
4.2.2. OBTENÇÃO DAS PEÇAS.....	124
4.2.3. PROCESSAMENTO LABORATORIAL	124
4.2.4. FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS	125
4.2.4.1. ANÁLISE DESCRITIVA.....	125
4.2.4.2. ANÁLISE MORFOMÉTRICA.....	126
4.2.4.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA	128

---

5 RESULTADOS.....	131
5.1 ANÁLISE DESCRITIVA.....	131
5.2 AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA	151
6 DISCUSSÃO	161
6.1 DA METODOLOGIA.....	161
6.2 DOS RESULTADOS	167
7 CONCLUSÕES	175
REFERÊNCIAS.....	179
ANEXO	197

---

1 Introdução

---

1 INTRODUÇÃO

Biocompatibilidade pode ser definida como a propriedade de um material não ser rejeitado pelo hospedeiro em decorrência de uma reação tóxica, imunopatológica ou carcinogênica (WILLIANS, 1986; VALEY; SIMONIAN; CONRAD, 1995). Sendo assim, essa propriedade é uma das mais importantes de um material que será usado como retrobturador ou obturador de canais radiculares, ou, ainda, capeador pulpar, uma vez que estará em contato direto com tecido conjuntivo. A incompatibilidade biológica de um material poderá interferir ou impedir o processo de reparo na área, daí a importância da realização de testes preliminares que investiguem as características reacionais e a intensidade das mesmas, quando em contato com os componentes do tecido conjuntivo. Além disso, outras propriedades são fundamentais a esses materiais, como: estabilidade dimensional, adesividade, baixa solubilidade e capacidade de estimular ou não interferir na deposição de tecido mineralizado, objetivando isolar o sistema de canais radiculares dos tecidos periapicais (GARTNER; DORN, 1992).

Inúmeros materiais já foram indicados ao longo dos anos para serem usados em casos de obturações retrógradas, como o amálgama, por exemplo, que por muitos anos foi considerado o material de escolha no tratamento de perfurações e em cirurgias parendodônticas (SUN; WATAHA; HANKS, 1997; YALTRIK et al., 2004). Entretanto, ele apresenta muitas desvantagens como o potencial de liberação de mercúrio e outros íons, corrosão, expansão tardia, infiltração marginal e formação de tatuagem (NAKATA; BAE; BAUMGARTNER, 1998; SHAHI et al., 2006). Além do amálgama, a guta-percha (MARCOTTE; DOWSON; ROWE, 1975), os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol (GARTNER; DORN, 1992), os cimentos que

contém hidróxido de cálcio (TANOMARU-FILHO, 1998; LUIZ, 2002;) e outros já foram indicados para esta finalidade.

Na década de 90 um novo material, o Agregado Trióxido Mineral ou MTA, foi desenvolvido na Universidade de Loma Linda, Califórnia, USA. Sua finalidade, inicialmente, era o emprego em cirurgias como material retrobturador e para selar as comunicações entre o sistema de canal(is) radicular(es) e o periodonto (TORABINEJAD; WATSON; PITT FORD, 1993; TORABINEJAD et al., 1994; PITT-FORD et al., 1995; TORABINEJAD; RASTEGAR et al., 1995; TORABINEJAD; HONG; MCDONALD et al., 1995; TORABINEJAD et al., 1997;). Ele foi aceito pela US Federal Drug Administration e se tornou comercialmente disponível como Pro Root MTA® (Tulsa Dental Products, Tulsa, OK, USA), e, mais recentemente, produzido no Brasil, como MTA-Angelus® da Ângelus.

O MTA é considerado um cimento à base de água, e se apresenta na forma de um pó primariamente composto de silicato dicálcico e tricálcico, os quais uma vez hidratados produzem um gel de silicato hidratado e de hidróxido de cálcio (CAMILLERI et al., 2005). Há relatos de que a composição do MTA é essencialmente o cimento Portland, acrescido de um radiopacificador (óxido de bismuto), com a finalidade de permitir sua visualização radiográfica (TORABINEJAD; WHITE, 1995).

O pó do MTA apresenta-se em finas partículas hidrofílicas, que tomam presa em presença da água. A hidratação do pó apresenta como resultado, a formação de um gel coloidal, que a princípio tem um pH de 10,5, elevando-se a 12,5 após três horas, permanecendo constante. A presa final desse gel ocorre após 165 minutos, resultando em uma estrutura dura e com boa resistência a compressão, 70MPa após 21 dias (TORABINEJAD; HONG; MCDONALD et al., 1995).

Diversas pesquisas já foram realizadas desde o surgimento do MTA com a finalidade de verificar suas propriedades, tais como: capacidade seladora (LEE; MONSEF; TORABINEJAD, 1993; TORABINEJAD; WATSON; PITT FORD, 1993), infiltração marginal (TORABINEJAD et al., 1994; TORABINEJAD; RASTEGAR et al., 1995), adaptação marginal (TORABINEJAD; RASTEGAR et al., 1995), pH, radiopacidade, tempo de presa, força de compressão e solubilidade (TORABINEJAD; HONG; MCDONALD et al., 1995), sendo que os resultados obtidos são satisfatórios. Além do uso do MTA em casos de cirurgia parendodôntica, como material retrobturador (WATSON; PITT FORD, 1993; TORABINEJAD et al., 1994; TORABINEJAD; HONG; LEE et al., 1995; TORABINEJAD; SMITH et al., 1995; TORABINEJAD et al., 1997; ADAMO et al., 1999; SHABAHANG et al., 1999; TORABINEJAD; CHIVIAN, 1999; REGAN; GUTMANN; WITHERSPOON, 2002; APAYDIN; SHABAHANG; TORABINEJAD, 2004; BERNABE; HOLLAND, 2004; SOUSA et al., 2004; BAEK; PLENK; KIM, 2005; BERNABE et al., 2005; TORABINEJAD), e no tratamento de perfurações dentais (ABEDI; INGLE, 1995; PITT-FORD et al., 1995; ARENS; TORABINEJAD, 1996; NAKATA; BAE; BAUMGARTNER, 1998; SLUYK; MOON; HARTWELL, 1998; HOLLAND; OTOBONI-FILHO et al., 2001; WELDON et al., 2002; LOXLEY et al., 2003; THOMSON et al., 2003; FERRIS; BAUMGARTNER, 2004; HARDY et al., 2004; MAIN et al., 2004; YILDIRIM et al., 2005; BROON, 2006; YILDIRIM; DALCI, 2006), esse material tem mostrado bom resultados em diversas outras aplicações clínicas, como: proteção pulpar direta (ABEDI, 1996; FARACO JUNIOR, 1999; TORABINEJAD; CHIVIAN, 1999; FARACO; HOLLAND, 2001; TZIAFAS et al., 2002; AEINEHCHI et al., 2003; ANDELIN et al., 2003; FARACO JUNIOR; HOLLAND, 2004; PARIROKH et al., 2005), pulpotomia (SOARES, 1996; TORABINEJAD;

CHIVIAN, 1999; EIDELMAN; HOLAN; FUKS, 2001; HOLLAND; DE SOUZA; MURATA et al., 2001; HOLLAND, 2002; MENEZES et al., 2004; FARSI et al., 2005; KARABUCAK et al., 2005; MAROTO et al., 2005; MAROTO et al., 2006), reabsorções dentárias interna e externa (SCHWARTZ et al., 1999; HSIEN et al., 2003; SARI; SONMEZ, 2006; MIN et al., 2007), dentes com rizogênese incompleta (SHABAHANG et al., 1999; TORABINEJAD; CHIVIAN, 1999; MAROTO et al., 2003; HAYASHI; SHIMIZU; EBISU, 2004; HAM et al., 2005; FELIPPE; FELIPPE; ROCHA, 2006; SIMON et al., 2007), como tampão apical em dentes com reabsorção provocada por lesão periapical (TORABINEJAD; CHIVIAN, 1999; BRAMANTE; BORTOLUZZI; BROON, 2004; HAYASHI; SHIMIZU; EBISU, 2004), no reparo de fraturas dentárias (SCHWARTZ et al., 1999; TORABINEJAD; CHIVIAN, 1999) e em obturações de canais radiculares (HOLLAND et al., 1999a; HOLLAND; et al., 2001;).

Quando foi lançado, em 1993, o fabricante mantinha em sigilo a fórmula do MTA, inicialmente comercializado como ProRoot MTA (Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK). Inúmeras pesquisas começaram a ser desenvolvidas no intuito de descobrir sua composição. Em 1999, Wucherpfennig et al. publicaram um resumo onde destacavam a semelhança que havia entre o MTA e o cimento Portland quanto à sua composição, morfologia micro e macroscópica, bem como na análise por difração de Raios-X. Neste mesmo trabalho, avaliaram ainda, *in vitro*, a biocompatibilidade dos materiais em culturas de células de osteoblastos MG-63 e *in vivo*, por testes em dentes de ratos. Em todos os ensaios realizados, ambos os materiais apresentaram resultados semelhantes, sugerindo que o cimento Portland poderia ter um desempenho tal qual o do MTA, como cimento obturador.

Frente a esse e a outros estudos que salientavam a semelhança do MTA ao cimento Portland, de construção civil, em 2001, a *Dentsply/Tulsa* revelou que o

Agregado de Trióxido Mineral era de fato composto por 75% de cimento Portland, acrescidos de 20% de óxido de Bismuto e 5% de sulfato de cálcio dihidratado.

O que vem sendo encarado como um grande problema com relação ao uso clínico do MTA é a presença de arsênico em sua fórmula (DUARTE et al., 2005). Esse elemento é uma impureza proveniente do calcário usado para a fabricação do cimento Portland. Segundo Larini et al. (1997) o arsênico é absorvido pela circulação sanguínea e rapidamente deposita-se nos tecidos, principalmente fígado, rins e pulmões. Todavia, a toxicidade deste elemento depende de sua concentração. Segundo a norma ISO 9917-1, um cimento de uso odontológico não deve conter mais que 2mg de arsênico por kg de material. Duarte et al. (2005) realizaram um estudo para verificar a liberação de arsênico em 2 cimentos à base de MTA e 3 cimentos Portland. Os resultados obtidos mostraram que todos os materiais testados apresentavam níveis de arsênico bem abaixo do limite regulamentado pela ISO 9917-1. Porém, um estudo realizado por Bramante et al. (2008) constatou que a presença de arsênico em 5 cimentos à base de MTA e 1 cimento Portland era bem superior àquela regulamentada, ou seja, esses cimentos apresentaram mais que 2mg/kg de arsênico. Vale ressaltar que devido ao fato do MTA ser empregado clinicamente em pequenas quantidades, menos de 1g por procedimento, o risco de toxicidade por arsênico se torna improvável. Com o objetivo de eliminar a presença dessas impurezas no MTA, a companhia brasileira Ângelus vem desenvolvendo o cimento MTA Bio, que seria um material com a mesma composição do MTA, porém totalmente processado em laboratório.

Outro material vem sendo desenvolvido na disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru- Universidade de São Paulo, pelo professor Dr. Ivaldo Gomes de Moraes. Esse cimento endodôntico experimental, com finalidade

retrobturadora, é fruto de uma linha de pesquisa iniciada em 1984 (MORAES). Recebe o nome atualmente de Sealepox RP, sendo seu precursor o MBPc, e é um cimento à base de resina epóxica, contendo em sua fórmula o hidróxido de Cálcio.

Assim, parece viável a realização de um estudo para se verificar as propriedades biológicas do MTA Branco, do MTA Bio e do Sealepox RP.

2 Revisão da Literatura

---

2 REVISÃO DA LITERATURA

A revisão da literatura foi realizada salientando os trabalhos pertinentes às propriedades biológicas dos cimentos MTA e do Sealepox RP (oriundo do cimento MBPc). Estudos a respeito das propriedades biológicas do Sealepox RP ainda são escassos. Quanto ao MTA Bio, trata-se de um cimento fabricado pela empresa Ângelus, ainda em fase de experimentação, não havendo, até o presente momento, relatos experimentais sobre suas propriedades biológicas.

2.1 AGREGADO DE TRIÓXIDO MINERAL (MTA):

A resposta tecidual frente a perfurações de furca realizadas em cães e seladas com amálgama ou MTA, foi avaliada por Hong et al. (1994). Para isso, foram empregados 32 pré-molares inferiores de seis cães da raça *Beagle*, que receberam tratamento endodôntico. Posteriormente, foram feitas perfurações na região da furca com auxílio de brocas esféricas. Metade das perfurações foi mantida aberta por quatro semanas com o intuito de se desenvolverem lesões de furca. Passado esse período, as cavidades foram seladas com amálgama ou MTA. A outra metade dos espécimes recebeu selamento com esses mesmos dois materiais, imediatamente após as perfurações terem sido feitas. Após quatro meses os animais foram mortos e os dados radiográficos e histológicos analisados. A análise estatística das radiografias pré e pós-operatórias mostrou que as perfurações seladas com MTA tiveram um reparo significativamente melhor do que aquelas seladas com amálgama. Os resultados histológicos mostraram que, quando foi

utilizado o amálgama, havia reação inflamatória e reabsorção óssea significativamente maiores do que quando foi utilizado o MTA. Concluindo, os autores recomendaram o uso do MTA no tratamento de perfurações de furca.

Pitt Ford et al. (1995) fizeram um experimento semelhante. Realizaram perfurações intencionais em 28 pré-molares inferiores de sete cães, objetivando a avaliação da resposta tecidual perirradicular na região de furca. Metade da amostra teve suas perfurações seladas, imediatamente, com amálgama ou MTA e na outra metade as perfurações foram deixadas expostas ao meio bucal por um período de seis semanas para que se contaminassem. Decorrido esse período, foram seladas com um dos dois materiais citados. Após quatro meses, os animais foram mortos e as peças coletadas para análise histológica. Os resultados mostraram que no grupo onde as perfurações foram imediatamente seladas com amálgama, havia inflamação de moderada a severa, enquanto que no grupo selado nessa mesma situação, porém com MTA, houve neoformação de cemento em cinco dos seis dentes analisados. No grupo dos dentes contaminados e selados com amálgama, áreas de inflamação foram identificadas. Já no grupo contaminado e selado com MTA três espécimes mostraram ausência de inflamação e quatro dentes apresentaram áreas inflamadas. Os autores concluíram que o MTA é um material mais conveniente do que o amálgama para ser usado no reparo de perfurações.

No mesmo ano, Torabinejad et al. (1995) realizaram um estudo comparando a citotoxicidade do MTA, amálgama, Super EBA e IRM. Para o desenvolvimento desta pesquisa foram utilizados fibroblastos de camundongo tipo L929 e métodos de cobertura com ágar e liberação de radiocromo. Os cimentos foram testados imediatamente após seu preparo e 24 horas após, quando já havia ocorrido sua presa final. Os resultados obtidos com a técnica de cobertura com ágar mostrou que

o amálgama foi significativamente menos tóxico que os demais materiais, tanto recém manipulado quanto após sua presa. O MTA mostrou-se menos tóxico do que o Super EBA e o IRM. Já os resultados obtidos com o teste de liberação de radiocromo, mostraram que o MTA foi o material menos tóxico, seguido do amálgama, Super EBA e IRM, porém sem diferença estatisticamente significante.

Torabinejad et al. (1995) compararam a reação tecidual dos cimentos MTA e Super EBA, implantando-os em cobaias. Foram empregados sete animais nos quais foram confeccionadas, em suas mandíbulas, duas lojas ósseas de 2mm de diâmetro e 2mm de profundidade. Os dois materiais testados foram então colocados em tubos de teflon e implantados nas lojas ósseas de seis animais. No animal restante as lojas foram mantidas vazias a fim de servirem de controle negativo. Após dois meses, os animais foram mortos e as peças coletadas e processadas para análise microscópica. Os eventos histológicos detectados foram: presença de reação inflamatória, tecidos conjuntivo ou ósseo neoformados justapostos ao material implantado. O MTA proporcionou uma reação inflamatória mais discreta do que o Super EBA. Todas as amostras do Super EBA apresentaram tecido conjuntivo fibroso próximo ao cimento e a presença de inflamação leve. As amostras do MTA mostraram a presença de tecido ósseo adjacente à área do implante em 1 das 5 lâminas analisadas e em 3 não havia sinais de reação inflamatória. As células inflamatórias observadas nas amostras de ambos os materiais testados eram, predominantemente, macrófagos e células gigantes. Tanto o MTA quanto o Super EBA foram considerados materiais biocompatíveis.

Torabinejad et al. (1995) realizaram um experimento, avaliando as respostas dos tecidos periapicais de cães quando usava-se MTA ou amálgama como material retro obturador. Foram utilizados os terceiros e quartos pré-molares inferiores de

seis cães da raça *Beagle*. As aberturas coronárias foram realizadas, seguido do preparo químico-mecânico onde os canais foram ampliados até a lima K#40. As cavidades pulpare foram mantidas expostas ao meio oral por duas semanas, a fim de que ocorresse sua contaminação. Posteriormente foram fechadas, e mantidas assim por mais quatro semanas, tempo para haver a formação de lesões periapicais. Só então, os dentes foram divididos em dois grupos de 12 dentes cada, sendo: G1- os canais foram obturados com guta-percha e cimento Roth® e as cavidades de acesso seladas com MTA; G2- os canais foram obturados apenas com guta-percha, sem cimento obturador, e as cavidades de acesso permaneceram sem selamento, ou seja, expostas ao meio oral. Decorridas duas semanas, os cães tiveram seus dentes tratados submetidos a cirurgias parendodônticas, onde foi realizada apicetomia e retro preparos com 2 mm de profundidade. As retro obturações foram realizadas com amálgama ou com MTA. Três animais foram mortos de 2 a 5 semanas após a cirurgia e os demais de 10 a 18 semanas após o mesmo procedimento cirúrgico. As peças obtidas foram processadas e submetidas à avaliação histológica. Os resultados mostraram que nos dois grupos, em ambos os períodos analisados não houve formação de cápsula fibrosa quanto o material utilizado foi o amálgama. No grupo obturado com MTA, houve formação de cápsula em 19 das 21 amostras. Todas as raízes obturadas com amálgama evidenciavam inflamação de moderada a severa, enquanto que somente 1/3 das obturadas com MTA apresentaram inflamação moderada. Entre 10 e 18 semanas, havia a formação de cimento, que ocorreu em 11 amostras do primeiro período do MTA e em todas as amostras do segundo período. Tais resultados permitem afirmar que o MTA, provavelmente, é capaz de induzir a ativação de cementoblastos, formando uma

matriz para a neoformação cementária, além da sua excelente capacidade seladora e elevado pH.

O potencial mutagênico do MTA, do IRM e do Super EBA foi investigado através do teste de mutagenicidade de Ames e cepas de *Salmonella typhimurium* LT-2, por Kettering e Torabinejad (1995). Os resultados obtidos mostraram que nenhum dos materiais apresentou qualquer efeito mutagênico direto ou indireto. Todavia os autores propuseram que, novos estudos in vivo devem ser realizados antes da indicação clínica do MTA, apesar do mesmo apresentar características superiores de selamento quando comparado aos demais materiais utilizados como retro obturadores, e ainda ser menos tóxico e não mutagênico.

O desempenho do MTA e do Dycal (hidróxido de cálcio) como materiais capeadores diretos da polpa dental de cães e macacos, foi avaliado por Abedi et al. (1996). Realizaram seis exposições pulparem em molares de seis cães e nos incisivos inferiores de quatro macacos. As exposições foram, imediatamente, capeadas com MTA ou Dycal e as cavidades restauradas com amálgama. Após 2 e 5 meses os animais foram mortos e suas coroas dentais removidas e descalcificadas em EDTA para posterior análise microscópica. A análise por histometria computadorizada demonstrou que, no grupo do MTA, houve maior formação de tecido mineralizado e menor reação inflamatória quando comparado ao grupo do Dycal (hidróxido de cálcio).

Myers et al. (1996) executaram o mesmo experimento, somente em dentes de cães, com MTA e Dycal (hidróxido de cálcio). As exposições pulparem foram realizadas e, em seguida, capeadas com um dos materiais em estudo e restauração da cavidade com amálgama. Ao todo 16 dentes foram capeados com MTA e 15 com Dycal. Após 90 dias os animais foram mortos e as peças processadas para análise

microscópica. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre os materiais em questão. Sendo assim, a conclusão foi de que tanto o MTA quanto o Dycal são materiais que apresentam bom desempenho quando usados como capeadores pulparem diretos, sendo ambos biocompatíveis e estimulantes de deposição de tecido mineralizado em exposições pulparem pequenas.

O experimento de Pitt Ford et al. (1996) envolveu, também, a comparação do Dycal (hidróxido de cálcio) e MTA em dentes de macacos. Foram utilizados 12 incisivos inferiores de quatro animais. As exposições pulparem foram puntiformes de 1mm de diâmetro, aproximadamente. Em um dos grupos o material usado foi o Dycal, seguido da restauração com amálgama. Nos demais dentes, foi utilizado o MTA como material capeador e a cavidade foi completamente preenchida com esse material. Após 5 meses, os animais foram mortos e o processamento histológico realizado utilizando-se da coloração com hematoxilina e eosina. Os resultados obtidos mostraram que em todas as polpas capeadas com MTA havia formação de ponte de tecido mineralizado espessa e contínua, semelhante à dentina original, adjacentes ao material. Observou-se ainda reação inflamatória apenas em um dos seis dentes. Quando o Dycal foi utilizado, notou-se formação de tecido mineralizado em apenas dois espécimes, sendo que, nesse caso, todas as amostras apresentavam-se inflamadas com predominância de polimorfonucleares.

A superioridade do MTA sobre o cimento de hidróxido de cálcio (Dycal), em procedimentos de capeamento pulpar, foi demonstrada também por Faraco Júnior; Holland (2001). Esses autores analisaram a resposta da polpa de dentes de cães quando submetidas a capeamentos pulparem com MTA e Dycal (hidróxido de cálcio). Utilizaram 30 dentes, de três animais, que tiveram suas superfícies vestibulares cavadas até que ocorresse exposição pulpar de 0,5mm de diâmetro. Foi realizado

capeamento com os materiais a serem testados e as cavidades foram seladas com cimento à base de óxido de zinco e eugenol. Dois meses após esses procedimentos, os animais foram mortos e os dentes removidos e processados para análise histológica. Os critérios analisados foram: formação de ponte de tecido mineralizado, reação inflamatória, presença de células gigantes, presença de partículas do material e presença de microorganismos. No grupo do hidróxido de cálcio observou-se formação de ponte de tecido mineralizado apenas em cinco espécimes. Em três dos espécimes, não houve presença de reação inflamatória; em quatro, observou-se micro-abscessos na polpa coronária. Inflamação crônica foi vista em 12 espécimes com variável intensidade e extensão. Observaram-se bactérias gram-positivas em quatro espécimes. No MTA observou-se presença de pontes de tecido mineralizado em todos os espécimes, dos quais oito, apresentavam pequena quantidade de tecido necrótico na parte superficial do tecido mineralizado. Não havia infiltrado inflamatório e nem microorganismos em nenhum dos espécimes.

Torabinejad et al. (1997) avaliaram, em dentes de macacos, a resposta dos tecidos periapicais frente ao MTA e ao amálgama de prata, quando empregados como materiais retro obturadores. Doze incisivos superiores de três animais da raça *Cynomolgus* foram utilizados. Os dentes foram tratados endodonticamente e obturados com guta-percha e cimento Roth. Após uma semana foram realizadas apicetomias nesses dentes, seguidas de retro preparos e retro obturações com amálgama ou MTA. Após cinco meses, os animais foram mortos, e a microscopia das amostras colhidas revelou que dos seis espécimes, onde o MTA foi utilizado, cinco apresentavam formação de barreira de tecido mineralizado em contato com o material e tecido conjuntivo isento de processo inflamatório. Dos seis espécimes do

grupo do amálgama, dois apresentavam inflamação moderada e quatro, inflamação severa, sendo que nenhum apresentou selamento biológico.

Koh et al. (1997) estudaram o efeito do MTA endurecido sobre a produção de citocinas, osteocalcinas e atividade da fosfatase alcalina em cultura de osteoblastos humanos, da linhagem MG-63. Como controle utilizaram placas de células sem presença de MTA. As interleucinas IL-1a, IL-1be e IL-6, o fator de estimulação de macrófagos e a osteocalcina foram observadas pelo teste ELISA. Os níveis de fosfatase alcalina foram medidos para o estabelecimento do nível de diferenciação dos osteoblastos. Os resultados mostraram que, a partir de seis horas, houve crescimento celular na superfície do MTA, que aumentou até 144 horas. Já nas amostras sem MTA, houve produção de quantidades indetectáveis de células. A produção de osteocalcina aumentou na presença do MTA.

Soares et al. (1996) avaliaram, em 1996, a resposta pulpar em 12 dentes de cães, executando pulpotomias e capeamentos com MTA ou Ca(OH)_2 . Decorridos 90 dias os animais foram mortos, os dentes coletados e processados para análise histológica. Os resultados mostraram que a formação de barreira de tecido mineralizado ocorreu em 91,66% dos dentes tratados com hidróxido de cálcio e 96,43 % dos tratados com MTA. Em 66,66% dos casos onde o hidróxido de cálcio foi utilizado observou-se barreira de tecido mineralizado e tecido pulpar normal, fato esse observado em 82,14% dos casos onde o MTA foi aplicado.

Junn et al. (1998) avaliaram, em capeamentos pulparez feitos com MTA ou hidróxido de cálcio, a quantidade de tecido mineralizado formado. Foram realizadas exposições pulparez standardizadas em 63 dentes de quatro cães da raça *Beagle*. Posteriormente, foi realizado capeamento pulpar direto com hidróxido de cálcio, em metade dos dentes, ou MTA, na outra metade. As cavidades foram então seladas

com amálgama, para o grupo do Ca(OH)_2 , e MTA, no grupo desse mesmo material. Os animais foram mortos após 1, 2, 4 e 8 semanas. A análise histológica mostrou ausência de reação inflamatória em 30 dos 32 espécimes do grupo do MTA e em 13 dos 31 espécimes do hidróxido de cálcio. Essa diferença foi estatisticamente significativa. Após o período de duas semanas, foi observada formação de tecido mineralizado quando o MTA foi utilizado como material capeador e no caso do hidróxido de cálcio, esse evento foi notado no período de quatro semanas. Na oitava semana, foi observada formação completa da ponte de tecido duro em 21 espécimes do MTA e apenas 2 do Ca(OH)_2 . Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Osorio et al. (1998) avaliaram, *in vitro*, utilizando cultura de fibroblastos gengivais humanos e células de ratos a linhagem L929, a citotoxicidade de materiais utilizados em obturações de canais radiculares, Endomet, CRCS e AH26; e obturações retrógradas, amálgama, Gallium GF2, Ketac Silver, MTA e Super EBA. Os resultados mostraram que o CRCS foi o cimento obturador menos tóxico seguido do Endomet e AH26. Já entre os cimentos utilizados para obturações retrógradas, o MTA mostrou não ser tóxico, o Gallim GF2 foi pouco tóxico e o Ketac Silver, o Super EBA e o amálgama mostraram elevada toxicidade.

O estudo da reação tecidual causada por implantes de MTA, amálgama, IRM e Super EBA em mandíbulas e tíbias de porcos da Índia, foi realizado por Torabinejad et al. (1998). Vinte animais tiveram cavidades confeccionadas em suas tíbias, onde foram implantados tubos de teflon preenchidos com os materiais a serem testados. Após dez dias, procedimento semelhante foi realizado na mandíbula. Decorridos oitenta dias, os animais foram mortos e os tecidos preparados para exame histológico. Os resultados mostraram que, dentre os

materiais analisados, o MTA foi o que teve resultado tecidual mais favorável, em ambos os locais testados, não apresentando reações inflamatórias significantes e mostrando a formação de barreira de tecido mineralizado em 6 dos 21 espécimes. Na tíbia o MTA foi o que mostrou mais freqüente aposição óssea direta, o que permitiu considerá-lo um material biocompatível. Quanto aos três outros cimentos, os resultados apresentados foram semelhantes entre eles e não tão favoráveis quanto os do MTA.

Koh et al. (1998) compararam a resposta celular frente ao MTA e ao IRM em cultura de osteoblastos da linhagem celular MG63, estudando a citomorfologia daquelas células com microscopia eletrônica de varredura, bem como a produção de citocinas que, segundo os autores, está relacionada com fases da formação óssea. Este estudo também teve o objetivo de tentar esclarecer o mecanismo pelo qual o MTA parece induzir a cementogênese. A microscopia eletrônica de varredura mostrou que as células em contato com o MTA de um a três dias, apresentaram-se saudáveis, com aparência achatada e estavam aderidas ao cimento, indicando biocompatibilidade. Já as células em contato com o IRM apresentavam forma arredondada, indicando ação tóxica do IRM, provavelmente devido à presença do eugenol contido no líquido do IRM. O teste ELISA revelou níveis elevados de interleucinas, em todos os períodos de tempo, quando as células cresceram na presença do MTA. Em contraste, quando as células cresceram sozinhas ou em contato com o IRM os níveis de interleucinas foram indetectáveis. Tais resultados revelaram que o MTA funciona como substrato biológico para células ósseas e estimula a formação de interleucinas.

No final de 1998 este agregado de trióxidos minerais foi aprovado pela FDA e lançado comercialmente em 1999 como ProRoot MTA pela Dentsply Tulsa Dental, Oklahoma – USA.

Shabahang et al. (1999) estudaram a capacidade de vários materiais de estimular a formação de barreira de tecido mineralizado quando usados no tratamento de dentes com rizogênese incompleta em cães. Este estudo foi feito em 64 pré-molares que tiveram suas cavidades pulpares expostas ao meio oral por 14 dias a fim de induzir formação de lesão periapical. Decorridas essas duas semanas, os dentes, já contaminados, foram selados com Cavit e permaneceram assim por mais 14 dias. Então, tomadas radiográficas foram feitas para se visualizar as lesões periapicais. Em seguida, realizou-se o preparo químico-mecânico e foi deixado curativo com pasta de hidróxido de cálcio por 1 semana. Os canais foram divididos em quatro grupos: G1- preenchidos com OP-1 (proteína morfogenética); G2- canais preenchidos com pasta de $\text{Ca}(\text{OH})_2$; G3- preenchidos com MTA; e G4- canais preenchidos com colágeno, servindo como controle negativo. A cavidade de acesso coronário de todos os dentes foi selada com MTA. Após 12 semanas os animais foram mortos e as peças processadas histologicamente para análise microscópica. Os resultados mostraram que o MTA promoveu uma formação mais intensa da barreira de tecido mineralizado quando comparado aos demais materiais, porém não houve diferença estatisticamente significativa. Também não houve diferença significativa entre os materiais quando da análise da reação inflamatória.

A biocompatibilidade de três tipos de MTA (desenvolvidos através da alteração do tamanho de suas partículas e adição de óxidos), três tipos de materiais sintéticos utilizados para enxertos ósseos (Gesso Paris, Interpore 200 e Biogran) e do cimento de hidróxido de cálcio (Dycal), foi testada por Mitchell et al. (1999), em

cultura de células de osteossarcoma MG63, que possuem propriedades fisiológicas e adesivas semelhantes às dos osteoblastos. Observou-se a morfologia, a liberação de citocinas e o crescimento celular. O crescimento e a morfologia celular foram analisados aos 2, 4 e 7 dias com microscópio eletrônico. Posteriormente, as amostras foram testadas pelo método ELISA, ensaios para a expressão da Interleucina (IL)-1 α , IL-6, IL-8, IL-11 e fator estimulador de colônia macrófagos (M-CSF). Os resultados mostraram bom crescimento celular, expressão de IL-6 e IL-8 frente ao MTA e Interpore 200. A produção de M-CSF foi elevada para todos os materiais. Os resultados demonstraram que as variantes do MTA são biocompatíveis.

Wucherpfening; Green (1999) publicaram um resumo sobre o MTA que despertou ainda mais a curiosidade dos pesquisadores. Os autores afirmaram terem observado macroscopicamente e microscopicamente, pela difração de Raios-X uma imensa semelhança entre o MTA e o cimento Portland, empregado em construção civil. Relataram ainda, que ambos os materiais mostraram comportamentos semelhantes quando testados em cultura de células e aplicados em polpas dentais de ratos.

Holland et al. (1999b) publicaram um estudo avaliando a reação do tecido subcutâneo de ratos a implantes de tubos de dentina preenchidos com hidróxido de cálcio quimicamente puro e MTA. Os tubos de dentina foram preparados a partir de raízes de dentes humanos e possuíam um comprimento de 7mm. Tubos vazios foram usados como controle. Os tubos foram implantados no dorso de 40 ratos, que foram mortos após um período de 7 e 30 dias, quando as peças foram removidas, processadas sem descalcificação, para então serem cortadas em micrótomo de tecido duro e coradas com coloração de Von Kossa para análise em microscópio de

luz polarizada. No grupo do Ca(OH)_2 , aos 7 dias foram observadas numerosas granulações birrefringentes à luz polarizada, localizadas no interior e próximo à embocadura do tubo e rodeadas por tecido conjuntivo com reação inflamatória de leve a moderada. Resultados semelhantes foram vistos aos 30 dias, porém neste período a reação inflamatória do tecido conjuntivo ao redor das áreas de calcificação foi considerada leve. No grupo do MTA os resultados foram praticamente os mesmos aos 7 dias, quando comparados aos resultados do grupo do hidróxido de cálcio. Aos 30 dias os resultados do primeiro período se mantiveram apresentando inflamação leve. Os dois materiais testados apresentaram formação de tecido mineralizado e parecem ter mecanismos de ação semelhantes.

Holland et al. (1999a) estudaram a reação dos tecidos periapicais de cães frente a obturações com MTA e Ketac-Endo. Trinta canais radiculares foram instrumentados e obturados com guta-percha e MTA ou Ketac-Endo pela técnica da condensação lateral. Antes de serem obturados, foi deixado curativo de demora com Otosporin por 1 semana. Decorridos 180 dias, os animais foram mortos e as peças processadas para análise microscópica. Verificaram que nos casos onde foi usado o MTA, havia 100% de deposição de cimento na região periapical e nenhuma reação inflamatória. No grupo do Ketac-Endo, foi observada inflamação crônica leve em algumas das amostras e nos casos onde houve extravasamento do material a reação inflamatória foi severa. Quanto à deposição de cimento, foi observado que ela foi parcial em apenas duas das 13 amostras do grupo do Ketac-Endo. Os dois cimentos testados demonstraram biocompatibilidade, porém, o desempenho do MTA foi mais satisfatório.

A ação do MTA e dos cimentos à base de óxido de zinco e eugenol (IRM e Super EBA) foi avaliada por Morandi (1999), em obturações retrógradas, após

apicetomia de dentes de cães portadores de lesões periapicais. Decorridos 6 meses dos procedimentos operatórios, a microscopia demonstrou que o MTA, IRM e Super EBA apresentaram resultados microscópicos semelhantes e superiores ao do cimento de óxido de zinco e eugenol consistente.

Keiser; Johnson; Tipton (2000) publicaram um estudo que avaliava a citotoxicidade do amálgama, MTA e Super EBA. Para a realização do experimento, utilizaram cultura de fibroblastos provenientes do ligamento periodontal de terceiros molares impactados extraídos. Os três materiais foram testados em duas condições diferentes: 1- logo após sua manipulação (seguindo as recomendações dos fabricantes); 2- 24 horas após sua manipulação, sendo que nesse período foram mantidos em ambiente com 100% de umidade e com temperatura de 37°C. Os resultados sob a primeira condição descrita acima mostraram que a toxicidade do amálgama foi superior, seguida pelo Super EBA e depois o MTA. Já no grupo analisado após a presa dos materiais, mostrou que o Super EBA foi mais citotóxico, seguido pelo MTA e o amálgama. Os resultados demonstraram que o MTA é um material que pode ser indicado para obturações retrógradas.

A capacidade de adesão de osteoblastos humanos a materiais usados em obturações retrógradas foi estudada por Zhu et al. (2000). Os materiais testados foram o MTA, o IRM, a resina composta e o amálgama, e a análise foi realizada por meio de microscopia eletrônica de varredura. Discos que continham os materiais já endurecidos foram colocados durante um dia no meio de cultura. A fase inicial da função celular foi estabelecida a partir do momento em que ocorria adesão, difusão, propagação ou expansão das células sobre a superfície de um dos materiais. A persistência de células circulares ou arredondadas, com pouca ou nenhuma difusão, sugeriu que a superfície do material pode ser tóxica. Os resultados encontrados

mostraram que os osteoblastos cresceram sobre a superfície do MTA e da resina composta. Já no caso do amálgama, as células fixaram-se em menor proporção e difundiram-se pouco. Na presença do IRM os osteoblastos apresentaram forma circular e sem expansão. A resposta foi favorável ao MTA e à resina composta.

As respostas teciduais subcutânea e intraóssea, em ratos, frente ao MTA e Super EBA foram avaliadas por Moretton et al. (2000). Sessenta ratos *Sprague-Dawley* foram divididos em dois grupos de acordo com o material a ser implantado. Cada animal recebeu dois implantes idênticos no osso parietal e dois no tecido subcutâneo. Os períodos experimentais foram de 15, 30 e 60 dias. Os resultados mostraram que os implantes subcutâneos de MTA induziram reações inflamatórias inicialmente severas, mas que se amenizaram aos 30 e 60 dias. No infiltrado inflamatório predominavam macrófagos, células gigantes, linfócitos e células plasmáticas. Nos espécimes do grupo do Super EBA, observou-se, aos 15 dias, presença de infiltrado inflamatório moderado, onde predominaram linfócitos e alguns macrófagos. Aos 30 e 60 dias, notou-se que o material havia sido encapsulado por uma faixa de tecido conjuntivo fibroso e o processo inflamatório mostrava-se bem discreto. Já nos implantes intraósseos, observou-se reação inflamatória menor do que nos implantes subcutâneos. Houve osteogênese similar nas amostras dos dois grupos experimentais, nos períodos de 15 e 30 dias. Porém, aos 60 dias o Super EBA mostrou mais osteogênese do que o grupo do MTA. Os dois materiais foram considerados biocompatíveis e osteocondutores, mas não osteoindutores, uma vez que no tecido subcutâneo não ocorreu osteogênese. O EBA foi considerado de nível 2, isto é, material como guta-percha e óxido de zinco, que provocam uma resposta inicial de leve a moderada, que diminui com o tempo. Já o MTA, foi considerado de nível 3, assim como o hidróxido de cálcio, ou seja, o material que induz uma

resposta inflamatória inicial de moderada a severa, incluindo a formação de células gigantes do tipo corpo estranho, necrose de coagulação e calcificações distróficas. Essa resposta diminui com o tempo.

Dumsha; Holt (2000) estudaram a biocompatibilidade do ProRoot®, cimento ósseo e Super EBA em dentes de furões. Foram utilizados dez caninos de cinco animais, que receberam tratamento endodôntico, apicetomia dos 3mm apicais, retro preparos e retro obturações com os materiais testados. Após seis semanas os animais foram mortos e as peças coletadas, radiografadas e processadas para análise microscópica. A análise radiográfica permitiu identificar neoformação óssea adjacente aos três materiais testados. Em todos os espécimes notou-se presença de infiltrado inflamatório moderado na região periapical, com predominância de macrófagos e plasmócitos. Os resultados apresentados pelos três materiais fundamentam a propriedade de biocompatíveis, podendo ser utilizados em obturações retrógradas.

Willershausen et al. (2000) analisaram a citotoxicidade e o potencial antiinflamatório do MTA (Dentsply); RSA (Roeko); implantes de titânio (Straumann); Sealapex (Kerr); e amálgama (Dispersaloy/ Dentsply). Foi utilizada cultura de fibroblastos gengivais e nasais e tumor de células epiteliais. _Os resultados mostraram que o valor do conteúdo protéico diminuiu significativamente em contato com o MTA e RSA, mas diminuiu mais ainda quando comparados com o Sealapex, MTA e RSA. O amálgama e os implantes de titânio não mostraram significante diminuição de proteínas. Houve baixa secreção de PGE2 dos fibroblastos gengivais quando em contato com o MTA e implantes de titânio; reações similares também ocorreram na cultura de fibroblastos nasais, sendo o tumor de células epiteliais o

menos sensível. Os autores concluíram que é possível obter evidências de reações celulares por novos e antigos materiais dentários.

Thomson et al. (2003) realizaram um estudo investigando os efeitos do MTA no crescimento de cementoblastos e produção de osteocalcina, através de cultura de células. Para isso, os autores realizaram marcações de proteínas específicas para mineralização. O MTA foi manipulado seguindo as recomendações do fabricante e em condições assépticas, em seguida o material foi incubado a 5% de CO₂ e a 37°C por 24 horas. Colocou-se, então, o MTA em contato com os cementoblastos e foi feita nova incubação por 7 e 12 dias. Os resultados obtidos mostraram que houve a formação de osteocalcina e que, portanto, o MTA possui capacidade de produzir matriz mineralizada pelos cementoblastos.

Holland et al. (2001) observaram o processo de reparo em perfurações laterais intencionais, após selamento com MTA e Sealapex. Foram utilizados 48 dentes de cães, que foram instrumentados e obturados com cones de guta-percha e cimento. Posteriormente, parte da obturação foi removida e então as perfurações radiculares realizadas na lateral das raízes, uma em cada dente, com brocas. Metade das perfurações foi selada com Sealapex consistente (controle) e a outra metade com MTA. Depois de 30 e 180 dias os animais foram mortos para análise histológica. Os resultados mostraram que, aos 30 dias, quatro casos reparados com MTA apresentaram deposição de cimento sobre o material e o ligamento periodontal não apresentava sinais de inflamação. No mesmo período, seis casos do grupo do Sealapex mostraram reação inflamatória crônica. Aos 180 dias, o Sealapex proporcionou pequena deposição de cimento em apenas 3 casos e inflamação crônica em todos os espécimes. Já o MTA, mostrou 10 casos livres de inflamação e 9 casos com neoformação de cimento sobre o material. O MTA pode ser

empregado no tratamento de perfurações radiculares, apresentando melhores resultados do que o Sealapex.

A reação tecidual após pulpotomia de dentes de cães seguida de proteção do remanescente pulpar com MTA e cimento Portland, foi analisadas por Holland et al. (2001). Vinte e seis dentes de cães foram utilizados neste experimento. Os animais foram anestesiados e tiveram seus dentes isolados com dique de borracha. Realizou-se abertura coronária com auxílio de brocas esféricas e então foram feitas as pulpotomias. Cessada a hemorragia, ocasionada pelo procedimento, os dentes tiveram seus remanescentes pulpares protegidos com MTA ou cimento Portland. As cavidades coronárias foram restauradas e após 60 dias os animais foram mortos e os dentes, juntamente com os tecidos adjacentes, removidos para processamento e análise histológica. Essa análise permitiu identificar 10 espécimes do grupo do MTA com formação completa de tecido mineralizado e ausência de reação inflamatória. Esses mesmos achados foram observados em 11 espécimes do grupo do cimento Portland. Os casos classificados como insucesso foram aqueles onde ocorreram problemas com o selamento coronário ou solução de continuidade na porção central da ponte de tecido mineralizado.

Holland et al. (2001) realizaram mais um trabalho *in vivo*, aplicando, em dentes de cães, o MTA e o cimento Portland como materiais obturadores dos canais radiculares. Ambos os cimentos foram preparados com solução fisiológica e introduzidos no interior dos canais radiculares com um espiral Lentulo, realizando-se obturação pela técnica da condensação lateral ativa. Após 90 dias, observou-se que 8 dos 10 dentes obturados com MTA mostravam selamento biológico total, sendo que os 2 espécimes restantes apresentaram selamento parcial. Já no grupo do

cimento Portland, sete casos apresentaram selamento completo, dois casos selamento parcial e um caso com ausência de selamento.

Holland et al. (2001) investigaram a reação do tecido subcutâneo de ratos após implantes de tubos de dentina preenchidos com MTA, cimento Portland ou hidróxido de cálcio. Os animais foram mortos após 7 e 30 dias e os espécimes preparados para análise em microscópio de luz polarizada e técnica de Von Kossa. Os resultados encontrados foram similares entre os três materiais testados. As amostras do grupo do hidróxido de cálcio apresentaram, nos dois períodos analisados, numerosas granulações birrefringentes à luz polarizada e Von Kossa positivas. Nas proximidades dessas estruturas pode-se observar áreas de tecido irregular Von Kossa positivas. Aos 7 dias, os implantes de hidróxido de cálcio, MTA e cimento Portland resultaram em uma reação inflamatória leve a moderada, que aos 30 dias foi considerada discreta, com algumas células gigantes presentes. Diante dos resultados encontrados é possível concluir que o mecanismo de ação desses três materiais parece ser semelhante.

Holland et al. (2002) avaliaram a reação do tecido subcutâneo de ratos frente à implantação de tubos de dentina preenchidos com MTA branco (ProRoot). Decorridos 7 e 30 dias os animais foram mortos, as peças coletadas, processadas sem passarem pelo processo de descalcificação, para posterior realização de análise microscópica. Os cortes obtidos foram corados com H.E. e Von Kossa. Após análise em microscópio de luz polarizada, constatou-se que os achados eram idênticos em ambos os períodos experimentais, com formação de inúmeras granulações birrefringentes e uma estrutura irregular próxima ao material implantado que se assemelhava a uma ponte Von Kossa positiva. Os resultados deste estudo

foram semelhantes aos já reportados com relação ao MTA cinza, o que indica que o mecanismo de ação do MTA branco e cinza é similar.

Tziafas et al. (2002) estudaram o efeito dentinogênico do MTA após capeamento pulpar. Foram empregados 33 dentes de três cães, que tiveram suas polpas dentais expostas na superfície vestibular e então protegidas com MTA. As cavidades foram restauradas com amálgama e após 1, 2 e 3 semanas os animais foram mortos. Vinte e um dentes foram analisados por microscopia óptica, seis por microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e seis dentes por microscopia eletrônica de varredura (SEM). No primeiro período experimental analisado, os autores observaram uma zona homogênea de estrutura cristalina, que iniciava sua formação entre o MTA e a polpa. Próximo a esse local, notou-se células pulpares com alterações em seu estado citológico e funcional. No período de 2 semanas, foi observada, em todos os dentes, deposição de tecido mineralizado de forma osteóide em íntimo contato com o material. Na terceira semana, observou-se uma barreira de tecido mineralizado obliterando todo o tecido pulpar. De acordo com os autores essa barreira era constituída por uma camada irregular de osteodentina e uma matriz de dentina composta por células alongadas, identificadas na microscopia eletrônica de varredura como dentina reparadora. Os autores concluem que o MTA é um material capeador efetivo, com capacidade de estimular a formação de dentina reparadora através de um mecanismo de defesa da polpa.

Um estudo sobre a reação do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos após implantes de tubos de dentina contendo MTA, Sealapex, CRCS, Sealer 26 e Sealer Plus, foi realizado por Holland et al. (2002). Os tubos de dentina foram confeccionados a partir de raízes de dentes humanos extraídos e autoclavados antes de seu uso. Sessenta ratos foram utilizados no experimento, sendo que esses

foram divididos em cinco grupos de dez animais cada, de acordo com o material a ser implantado. Os dez animais restantes foram utilizados para compor o grupo controle, onde foram implantados tubos vazios. Após 7 e 30 dias os animais foram mortos e os implantes e seus tecidos adjacentes removidos para análise microscópica. Alguns cortes foram parcialmente descalcificados e corados com H.E., enquanto que outros não passaram pelo processo de descalcificação. No grupo controle, após sete dias, observou-se ligeira inflamação tecidual, e aos 30 dias notou-se uma cápsula fibrosa com poucas células inflamatórias. Em todos os grupos experimentais foi observada a presença de tecido mineralizado, com exceção do grupo do CRCS. Essa formação foi maior nos espécimes correspondentes ao MTA e ao Sealapex. Os autores consideraram, ainda, que o CRCS pode ter menor possibilidade de estimular a deposição de tecido mineralizado e que os demais materiais têm potencial para induzir o fechamento biológico do forame apical.

Regan; Guttman; Whitterspoon (2002) avaliaram o potencial do MTA e do Diaket de promoverem regeneração tecidual nos tecidos perirradiculares de cães, quando utilizados como materiais retrobturadores. Sete animais foram anestesiados e tiveram seus terceiros e quartos pré-molares isolados com diques de borracha. Foi realizada abertura coronária desses dentes, bem como preparo químico-mecânico e obturação de seus canais radiculares. As cavidades coronárias foram seladas com IRM. Na mesma sessão, foram realizados os procedimentos parendodônticos que incluíram apicetomia, retro preparos de aproximadamente 1,5mm de diâmetro e 2mm de profundidade e retro obturações com MTA e Diaket. Sessenta dias após os procedimentos os animais foram mortos e os dentes, juntamente com seus tecidos adjacentes, removidos para posterior análise microscópica. Os cortes foram feitos com 6µm de espessura e a coloração utilizada foi de H.E. e Tricômico de Masson. A

microscopia demonstrou que em ambos os grupos, grande formação de tecido ósseo, de novo ligamento periodontal e de cimento sobre os materiais. Tais achados indicam que tanto o MTA quanto o Diaket podem induzir a formação de cimento sobre si, podendo, assim, auxiliar na completa regeneração do periodonto perirradicular quando utilizados como cimentos retrobturadores.

Antunes et al. (2002) avaliaram, *in vitro*, a citotoxicidade do MTA e do Super EBA. Os autores utilizaram cultura de fibroblastos embrionários da linhagem NIH-3T3. Os períodos de observação foram de 1, 3, 5 e 7 dias. Os resultados observados mostraram não haver diferença estatisticamente significativa entre os materiais testados quanto à diminuição do número de células viáveis ao longo do tempo. Houve o crescimento celular na presença dos materiais, em todos os períodos analisados. Conclui-se que tanto o MTA quanto o Super EBA podem ser considerados biocompatíveis.

Economides et al. (2003) estudaram, *in vivo*, a resposta dos tecidos perirradiculares ao MTA num curto espaço de tempo. Para isso foram utilizados 24 canais radiculares de dois cães. Os animais foram inicialmente anestesiados e seus dentes tiveram suas cavidades pulpares acessadas. Em seguida, foi feito preparo químico-mecânico até a lima K#40 e a obturação utilizando cones de guta-percha e cimento Roth 801. As cavidades coronárias foram restauradas com amálgama. Na mesma seção os cães tiveram seus dentes submetidos a cirurgia parendodôntica, onde foi realizada apicetomia e preparo das cavidades apicais a 3mm de profundidade. Em seguida, oito cavidades foram retro obturadas com IRM e 14 com MTA. Os procedimentos foram realizados nos dois cães em períodos de tempo diferentes, sendo que cada hemi-arcada teve um período experimental distinto, sendo eles: 1, 2, 3 e 5 semanas. Decorridos os tempos de observação, os animais

foram mortos e as peças coletadas para análise microscópica. Os cortes histológicos foram feitos com 7µm de espessura e foram corados com H.E.. Os resultados mostraram que no grupo do MTA, após um período de 1 semana, havia presença marcante de tecido conjuntivo frouxo neo-formado. Com o decorrer dos períodos, nesse grupo, foi sendo observada a evolução processo de reparo caracterizado pela formação de uma fina camada de tecido mineralizado. Processo inflamatório leve foi visto em todos os períodos analisados. A microscopia eletrônica revelou uma estrutura homogênea e bem organizada de cristais sobre a superfície do MTA. Já no grupo do IRM, observou-se inflamação de moderada a severa em seis de oito raízes e não se notou a formação de tecido mineralizado. O MTA revelou biocompatibilidade e estímulo para o desenvolvimento do processo de reparo do tecido perirradicular.

Duarte et al. (2003) analisaram, *in vitro*, a liberação de íons cálcio e o pH do ProRoot MTA e do MTA Angelus®. Ambos os materiais foram manipulados com água deionizada e introduzidos em tubos plásticos de 10mm de comprimento e 1,5mm de diâmetro interno. Para a análise do pH, os tubos foram colocados no interior de recipientes com água deionizada e, então, os valores foram obtidos com auxílio de um pHmetro às 3, 24, 72 e 168 horas após a manipulação dos cimentos. A liberação de íons cálcio foi avaliada nos mesmos períodos experimentais da análise do pH, e suas medidas feitas com um espectrômetro de absorção atômica. Os resultados obtidos mostraram que os valores do pH e de liberação de íons cálcio foram significativamente mais altos no MTA Angelus® do que no ProRoot MTA. A liberação de íons de cálcio e o pH em ambos os materiais inicialmente foram altos. Os dois materiais liberam cálcio e promovem o pH alcalino com valores altos, durante o período inicial.

Aeinehchi et al. (2003) realizaram um estudo comparando o ProRoot MTA ao Dycal (hidróxido de cálcio) quando usados em capeamentos pulpare de dentes humanos. A pesquisa foi realizada com pessoas com idade entre 20 e 25 anos, sendo usados onze pares de terceiros molares superiores com indicação para extração. Foram realizadas cavidades coronárias nos dentes até que se conseguisse uma pequena exposição pulpar. Em seguida, os dentes receberam capeamento pulpar com um dos dois materiais testados. O selamento das cavidades foi feito com OZE e amálgama. No total 14 dentes foram extraídos, nos seguintes períodos: após uma semana (2 molares), dois meses (3 molares), três meses (5 molares), quatro meses (2 molares) e seis meses (2 molares). Imediatamente após as extrações, os dentes tiveram seus ápices seccionados para penetração de solução fixadora, e nesta foram deixados por um período de uma semana. Os dentes foram então processados, passando primeiro por um processo de descalcificação. A análise microscópica realizada consistiu em analisar a severidade, tipo e localização do processo inflamatório, bem como localizar áreas necróticas, hiperêmicas e calcificações em áreas fora da ponte de dentina e da camada odontoblástica. Os resultados obtidos mostraram menor inflamação, hiperemia e necrose, como também maior espessura da ponte de dentina e maior frequência de formação da camada odontoblástica com o ProRoot do que com o Dycal. Os resultados foram mais favoráveis quando se usou o ProRoot MTA como material capeador, porém sugerem que novas pesquisas com amostras maiores e maior tempo de controle devem ser realizadas.

O efeito do MTA, IRM, amálgama e Retroblast no crescimento e morfologia celular e produção de citocinas IL-1 β e IL-6 em fibroblastos e macrófagos de ratos foi estudado por Haglund et al. (2003). Os materiais foram estudados em dois

estados diferentes: I- imediatamente após o preparo; II- duas semanas após o preparo, sendo que os materiais foram mantidos a uma temperatura de 37°C e 100% de umidade. Observou-se que o efeito dos materiais foi o mesmo nesses dois grupos. Os resultados mostraram que todos os materiais inibiram o crescimento das células e o MTA recentemente misturado foi, morfológicamente, caracterizado por proteínas desnaturadas e células mortas adjacentes ao material. Não houve nenhuma produção de citocinas em nenhum dos materiais testados.

Asrari; Lobner (2003) realizaram um estudo, *in vitro*, verificando o mecanismo de neurotoxicidade de materiais utilizados em obturações retrógradas. Os materiais utilizados foram MTA, Super EBA, Diaket e amálgama sendo que todos foram utilizados em dois estados distintos: recém manipulados e após a presa final. Os materiais foram colocados em contato com cultura de células neuronais de fetos de ratos. Pelo contato dos materiais com os neurônios havia a liberação da enzima citolítica lactato desidrogenase (LDH), que pôde ser quantificada pelo método de Assay. Os resultados mostraram que todos os materiais testados, tanto recém manipulados quanto após a presa final, com exceção do MTA, foram citotóxicos, pois promoveram morte celular 24 horas após seu contato na cultura de neurônios. Os autores atribuíram essa neurotoxicidade do Super EBA, amálgama e Diaket ao elemento zinco que está presente na composição desses três materiais.

Shin et al. (2003) avaliaram a biocompatibilidade e o efeito mitogênico de do IRM, Super EBA, ProRoot™ MTA branco e cinza, Geristore® e Retroplast™. Para isso, utilizaram cultura de células odontoblásticas, osteoblásticas e células-tronco da polpa dentária humana. Com auxílio de um microscópio eletrônico de varredura, avaliou-se a fixação e morfologia das células. A proliferação celular foi avaliada pelo teste MTT. Após 6 horas observou-se que as células foram atraídas pelos materiais

testados, com exceção do Retroplast. O ProRoot MTA cinza e branco mostraram efeito mitogênico sobre as células odontogênicas e osteogênicas, evento esse que não foi observado quando em contato com o Geristore. Os autores concluíram que o MTA e o Geristore são biocompatíveis, porém o MTA mostrou ser superior aos demais materiais avaliados por apresentar maior efeito mitogênico sobre as células osteogênicas e odontogênicas.

A resposta tecidual do tecido subcutâneo de ratos a implantes de MTA e Calen (pasta de hidróxido de cálcio) foi estudada por Motta et al. (2003). Ambos os materiais foram implantados no dorso dos animais dentro de tubos de polietileno com dimensões de 10mm de comprimento e 1,5mm de diâmetro interno. Como controle foram implantados tubos vazios. Após 7, 14 e 30 dias os animais foram mortos e os tecidos correspondentes às áreas implantadas, removidos para processamento e análise histológica. Os cortes foram corados com H.E. e Von Kossa. Aos 7 e aos 14 dias, observou-se no grupo da pasta Calen presença de reação inflamatória severa, que aos 30 dias diminuiu, sendo classificada como leve. Observaram-se também áreas Von Kossa positivas. Já no grupo do MTA, aos 7 dias notou-se um infiltrado inflamatório moderado; aos 14 dias menor extensão inflamatória foi observada na maioria dos espécimes, porém ainda foi considerada moderada. Aos 30 dias, havia poucas células mononucleadas e a inflamação foi classificada como leve. Com base nos resultados obtidos o MTA e a pasta Calen apresentaram pequena reação inflamatória, com formação de cápsula fibrosa ao redor. Somente a pasta Calen apresentou áreas basofílicas calcificadas.

Perez et al. (2003) investigaram o comportamento de células do osteossarcoma MG-63 e de osteoblastos primários, provenientes de calvárias de ratos, em contato com ProRoot MTA e MTA branco. Após 6, 9 e 13 dias de

exposição aos materiais as células estavam fixadas sobre a superfície dos cimentos e preparadas para análise em microscópio eletrônico de varredura. Com exceção do MTA branco, não foram encontrados osteoblastos fixados sobre as superfícies. Ambos os tipos de células também foram cultivadas e expostas ao β -fosfatoglicerídeo e à dexametasona para avaliar a formação de nódulos de mineralização em consequência de sua ação osteogênica. Foram observados nódulos nas culturas dos osteoblastos primários, mas não foram encontrados nas culturas das células do osteossarcoma MG-63. Os resultados revelaram que os osteoblastos primários não permaneceram fixados à superfície do MTA branco por um longo tempo, e que tais células são mais sensíveis do que as células do osteossarcoma MG-63 frente ao MTA branco.

Um estudo foi realizado por Diamanti et al. (2003) analisando e comparando a composição química, pH e as características da superfície dos MTAs cinza e branco (ProRoot). Por difração de raios-X, foi observado que a composição química do MTA branco e cinza é bastante similar à do cimento Portland comum, porém entre os MTAs há diferenças. O óxido de ferro (Fe_2O_3) estava ausente no MTA branco e o sulfato de cálcio (CaSO_4) ausente no MTA cinza. Os dois materiais mostraram ter superfície consideravelmente rugosa, e a mensuração do pH mostrou que o MTA branco possui um pH elevado, entre 11,32 e 11,38, logo após seu preparo e duas horas depois. Os MTAs, branco (ProRoot) e cinza, são cimentos Portland com elevado pH, que apresenta superfície rugosa após sua presa.

Yaltrik et al. (2004) realizaram um estudo para verificar a biocompatibilidade do MTA (Dentsply) e do amálgama (Oralloy- Coltene) quando implantados em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. Os materiais foram implantados dentro de tubos de polietileno, no dorso de 30 ratos *Wistar* albinos. Como controle foram implantados

tubos de polietileno vazios. Os períodos experimentais foram de 7, 15, 30, 60 e 90 dias, quando os animais foram mortos para posterior análise microscópica. A coloração utilizada foi H.E. e técnica de Von Kossa. Os critérios histológicos analisados foram: presença de reação inflamatória, tipo celular predominante, presença de calcificação e espessura do tecido conjuntivo fibroso. Os resultados mostraram que aos 7 dias, após a implantação do MTA, houve formação de zonas necróticas e de calcificação distrófica, bem como uma reação inflamatória moderada com predomínio de macrófagos e células gigantes. Resultados semelhantes foram observados aos 15 dias. Neste mesmo grupo, aos 30 dias, notou-se a presença de uma fina cápsula fibrosa e áreas de calcificação distrófica, o infiltrado inflamatório já era menos intenso neste período. Aos 60 dias, a inflamação foi classificada como moderada e aos 90 dias, como ausente. Em ambos os períodos notou-se focos de calcificação. No grupo do amálgama, a inflamação foi moderada, aos 7 e 15 dias, com presença de linfócitos e polimorfonucleares. Aos 30 dias, esse quadro amenizou-se. Este grupo não apresentou áreas necróticas e focos de calcificação em nenhum dos espécimes e em todos os períodos analisados. O MTA induz a formação de tecido mineralizado.

Kowalski et al. (2004) realizaram um estudo semelhante ao anteriormente citado. Averiguaram a resposta tecidual do tecido subcutâneo de ratos a implantes de tubos de polietileno preenchidos com MTA. Doze animais da linhagem *Wistar*, receberam 24 implantes. Cada animal teve implantado dois tubos em seu dorso, um preenchido com MTA Ângelus e outro com ProRoot MTA. Após 7 e 60 dias, os animais foram mortos e as peças coletadas para processamento e análise histológica. Os resultados foram semelhantes para ambos os cimentos testados e nos dois períodos de análise. Aos 7 dias a reação inflamatória foi leve, com pequena

presença de neutrófilos e fibras colágenas em abundância. Já no período de 60 dias, observou-se ausência de infiltrado inflamatório. Os resultados demonstraram que ambas as marcas comerciais de MTA induzem reação tecidual semelhante e satisfatória.

Menezes et al. (2004) avaliaram a resposta da polpa de dentes de cães após pulpotomia e proteção pulpar direta com MTA Ângelus, ProRoot MTA, cimento Portland e cimento Portland branco. Para a realização do experimento, foram utilizados 76 dentes de 4 cães. Decorridos 120 dias do procedimento operatório, os animais foram mortos, as peças colhidas, preparadas e analisadas microscopicamente. Os resultados mostraram que os quatro materiais testados provocaram reações teciduais semelhantes: manutenção da vitalidade pulpar e formação de ponte de tecido mineralizado.

A resposta dos tecidos periapicais de dentes de cães frente ao MTA recém manipulado e após sua presa foi analisada por Apaydin; Shabahang; Torabinejad (2004). Foram utilizados 24 pré-molares inferiores de 4 cães, que tiveram seus canais radiculares instrumentados e obturados metade com MTA até o comprimento de trabalho e metade com guta-percha. Após 2 semanas, metade dos dentes teve seus ápices radiculares expostos e ressectados cirurgicamente, incluindo o MTA que já havia tomado presa no interior dos canais radiculares. A outra metade dos dentes também teve seus ápices removidos, os retro preparos realizados com pontas ultrassônicas e as retro obturações executadas com MTA recém manipulado. Quatro meses após os procedimentos os animais foram mortos e seus tecidos perirradiculares analisados histomorfometricamente. Os resultados obtidos indicaram que o MTA quando utilizado imediatamente após sua manipulação mostrou um número significativamente maior de casos com neoformação de cimento. Porém,

não houve diferença significativa, entre as duas situações analisadas, quanto à quantidade de cimento neoformado ou reparo ósseo ocorrido.

Camilleri et al. (2004) pesquisaram, em cultura de células de osteossarcoma Saos-2, a citotoxicidade do MTA e a morfologia de sua superfície. Neste estudo foram empregados dois tipos de MTA: o ProRoot cinza e o ProRoot branco. Para a análise da morfologia superficial, as amostras dos cimentos foram colocadas dentro de anéis metálicos de 5mm de diâmetro e mantidos em ambiente a 37°C e 100% de umidade durante períodos de 1 e 28 dias. A análise em microscópio eletrônico de varredura demonstrou similaridade quanto à morfologia de suas superfícies, sendo essas lisas e sem estruturas cristalinas. Quanto ao estudo da citotoxicidade, os dois materiais foram utilizados depois de 1 e 28 dias de sua manipulação e esterilizados com aplicação de luz ultravioleta por 12 horas. Em seguida, as amostras dos cimentos ProRoot MTA cinza e branco foram colocados nas placas de cultura das células e mantidos sob 37°C, 5% de CO₂ e 95% de O₂. Após 1, 5 e 7 dias, as placas foram cobertas com glutaraldeído a 2,5% por 4 horas, com a finalidade de promover a fixação das células. Após análise em microscopia eletrônica de varredura, observou-se que todas as amostras de cimento manipulado após 1 dia exibiam uma monocamada de células confluentes após 5 e 7 dias. A resposta foi semelhante para ambos os materiais. Materiais utilizados após 28 dias de sua manipulação, apresentaram camadas descontínuas de células após 1 e 5 dias. Os resultados demonstraram que após um dia de manipulação, os dois cimentos mostraram-se biocompatíveis e aos 28 dias os cimentos mostraram-se menos biocompatíveis.

Sousa et al. (2004) avaliaram a reação de tecido ósseo frente à implantes de MTA, OZE e resina composta. Foram utilizados 30 porcos da Índia que receberam, em suas mandíbulas, implantes de tubos de teflon contendo os materiais a serem

testados. Cada animal recebeu dois implantes do mesmo material. Como controle foi feita análise do tecido em contato com o teflon dos tubos. Após os períodos de quatro e doze semanas, os animais foram mortos para posterior realização da análise da reação tecidual. Observou-se, no grupo controle, neo-formação óssea e finas camadas de tecido conjuntivo sem reação inflamatória em ambos os períodos analisados. No período de quatro semanas notou-se que os espécimes que receberam implantes de OZE apresentaram reação inflamatória severa com predomínio de células mononucleadas, presença de áreas de osso necrótico e em processo reabsortivo. Ao final de 12 semanas, nesse mesmo grupo, a reação inflamatória foi considerada leve e havia neoformação óssea. No grupo da resina composta, após 4 semanas, observou-se infiltrado inflamatório leve a moderado, com formação de tecido conjuntivo rico em fibroblastos entre o material e o tecido ósseo; no período de 12 semanas notou-se reação inflamatória leve. Já no grupo do MTA, no período experimental de 4 semanas, foi vista inflamação leve e neo-formação de tecido ósseo em contato com o material; às 12 semanas, notou-se que a neo-formação óssea continuava, exibindo osteoblastos em íntimo contato com o MTA. Os resultados demonstraram que o OZE foi altamente tóxico no primeiro período analisado (4 semanas), porém esse quadro melhorou quando analisado em 12 semanas o que permitiu que fosse considerado um material biocompatível. O MTA e a resina composta também mostraram biocompatibilidade. O MTA permitiu crescimento ósseo sem a interposição de tecido conjuntivo.

Bernabé et al. (2004) avaliaram o reparo dos tecidos periapicais de dentes de cães com lesão periapical, após retrobturação com MTA e cimento Portland. Trinta e dois dentes de dois cães tiveram suas cavidades pulpares acessadas e mantidas expostas ao meio oral por 90 dias a fim de induzir a formação de lesões periapicais.

Decorrido esse período, foram realizadas tomadas radiográficas para a constatação da presença das lesões. Em um procedimento cirúrgico, as raízes foram apicetomizadas numa extensão de 3mm e foram realizadas retrocavidades de 3mm de profundidade com auxílio de pontas diamantadas ultrassônicas. As retrobturações foram executadas com MTA e cimento Portland. Após 180 dias, os animais foram mortos e os dentes, juntamente com seus tecidos adjacentes, removidos para análise microscópica. Não se constatou diferença estatisticamente significativa na reação tecidual entre os dois materiais testados. Ambos demonstraram processo de reparo dos tecidos periapicais. Porém, os autores não recomendam o uso clínico do cimento Portland em seres humanos, em função de implicações éticas e jurídicas junto ao Ministério da Saúde, uma vez que existem inúmeros cimentos que podem conter componentes ainda não estudados.

Um estudo avaliando o efeito antiproliferativo do MTA, IRM e ionômero de vidro, foi realizado por Koulaouzidou et al. (2005). Foram utilizadas três culturas de células diferentes, sendo elas: BHK21/C13 (fibroblasto de hamster); L929 (fibroblasto de rato); e RPC-C2A (células pulpares de ratos). Os três materiais foram manipulados segundo recomendações dos fabricantes, e aguardaram-se suas presas por um período de 48 horas, quando, então, foram esterilizados e colocados em contato com os meios de cultura das referidas células e incubados por 12, 24 e 48 horas. Decorridos esses períodos, realizou-se análise para obter-se o número estimado de células sobreviventes. O cimento que apresentou maior toxicidade, ou seja, menor número de células sobreviventes, em todos os períodos experimentais, foi o IRM. O MTA e o ionômero de vidro mostraram-se pouco citotóxicos, demonstrando, com esse modelo experimental, características de biocompatibilidade.

Bernabé et al. (2005) fizeram um estudo comparativo da reação do tecido periapical de cães, frente ao MTA e a outros materiais retrobturadores. Foram utilizados 48 pré-molares de três cães. As aberturas coronárias foram realizadas, sob isolamento absoluto, o tecido pulpar removido e as cavidades pulpares mantidas expostas ao meio oral por um período de 6 meses, para induzir a formação de lesões perirradiculares. Após esse período, uma segunda intervenção foi realizada executando a remoção da lesão periapical e a apicetomia, seguida de retrobturações com MTA, IRM, Super EBA e OZE. Após seis meses, deste segundo procedimento, os animais foram mortos e os dentes e seus tecidos adjacentes removidos para processamento e análise histológica. No grupo do OZE apenas dois dos 10 espécimes analisados apresentaram reparo completo e ausência de infiltrado inflamatório, sendo que dois apresentaram resposta inflamatória crônica e outros dois apresentaram inflamação crônica severa. Quanto ao IRM, quatro amostras mostraram reparo completo sem inflamação e os outros seis espécimes apresentaram infiltrado inflamatório crônico severo com predomínio de linfócitos, macrófagos, plasmócitos e micro-abscessos, bem como presença de microorganismos Gram-negativos. O Super EBA apresentou seis espécimes com reparo completo e quatro com inflamação crônica intensa. Por fim, o MTA mostrou cinco de seus 10 espécimes com completo reparo e sem presença de inflamação. Os cinco espécimes restantes mostraram infiltrado crônico intenso com predomínio de macrófagos, linfócitos, plasmócitos e micro-abscessos. Os resultados demonstraram que o MTA, IRM e Super EBA mostraram espécimes com resultados superiores e outros semelhantes àqueles encontrados com o uso do OZE.

A reação periapical e a regeneração do cimento em dentes de cães foram estudadas por Baek; Plenk; Kim (2005). Cinco cães da raça *Beagle* tiveram lesões

periapicais induzidas em seus molares e pré-molares. Para isso, foram feitas aberturas coronárias naqueles dentes, remoção do tecido pulpar, seguido da colocação de cones de papel contaminados, com placa bacteriana dos cães, em seus canais radiculares. Os dentes foram então selados com IRM. Tomadas radiográficas foram realizadas entre a quarta e a sexta semanas após o procedimento, para verificar a formação das lesões periapicais. Os canais radiculares foram então preparados químico-mecanicamente, obturados e as cavidades coronárias novamente seladas com IRM. Posteriormente, os dentes foram apicetomizados e divididos em três grupos de acordo com os cimentos retrobturadores: G1- amálgama; G2- Super EBA; e G3- MTA. Quatro meses após, os animais foram mortos para dos resultados. A microscopia revelou que os dentes retrobturados com MTA, apresentavam menor infiltrado inflamatório, onde predominavam macrófagos, plasmócitos e linfócitos. Também foi observada neoformação de cimento sobre o MTA em quase todos os dentes. O Super EBA mostrou infiltrado inflamatório moderado, com predomínio de macrófagos, linfócitos, plasmócitos e alguns PMNs. Já o grupo do amálgama, mostrou intensa reação inflamatória, com PMNs, leucócitos, alguns macrófagos e células gigantes do tipo corpo estranho. O MTA foi o melhor material, seguido do Super EBA e o amálgama.

Rezende et al. (2005) analisaram a ação do ProRoot MTA e do MTA-Ângelus sobre a viabilidade de macrófagos M1 e M2 de ratos. Os cimentos foram dosados e manipulados seguindo as recomendações de seus fabricantes e então foram inseridos em tubos capilares estéreis. Após a presa final dos materiais, os tubos foram esterilizados por irradiação. Os tubos capilares contendo os cimentos foram adicionados na suspensão celular presente em 24 placas, e incubados por 24, 48 e 72 horas. Os resultados obtidos mostraram não haver diferença percentual de

células viáveis entre os dois materiais testados e a produção das citocinas TNF- α , IL-12 e IL-10 não foram influenciadas pela presença dos cimentos.

Cintra et al. (2006) realizaram um estudo avaliando e comparando a resposta inflamatória e o potencial de neo formação óssea em alvéolo de ratos, frente à implantes de tubos de polietileno preenchidos com MTA e MBPc. Foram utilizados 48 ratos Wistar, que foram divididos em três grupos: G1- MTA; G2- MBPc; e G3- tubos vazios, como controle. Os incisivos centrais superiores dos animais foram extraídos e, em seus alvéolos, implantados os tubos contendo os materiais a serem testados. Aos 7, 15 e 30 dias após a realização dos implantes, os animais foram mortos e suas hemi-maxilas removidas e preparadas para análise microscópica. No período de 7 dias, o MTA apresentou algumas áreas necróticas e aos 15 dias, observou-se áreas basofílicas irregulares compatíveis com área de mineralização, que foi também vista aos 30 dias. Já o MBPc, nos períodos de 7 e 15 dias, apresentou um leve infiltrado inflamatório, com presença de fibroblastos e vasos sanguíneos neo formados. Aos 30 dias observou-se neo formação óssea, porém o reparo alveolar não foi completo. Os resultados obtidos demonstraram que os dois materiais apresentaram comportamento biológico semelhante.

Shahi et al. (2006) analisaram a biocompatibilidade do MTA branco, MTA cinza e amálgama em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. Foram utilizados 45 animais, os quais receberam implantes de tubos de polietileno preenchidos com os materiais experimentais em seu dorso. Cada animal recebeu 4 tubos, sendo 3 com cada um dos cimentos e o quarto tubo permanecendo vazio, a fim de servir como controle. Os períodos experimentais foram de 3 dias, 1 semana e 3 semanas, quando então os animais foram mortos para avaliação microscópica. Os resultados mostraram que após 3 dias, o MTA branco foi mais biocompatível que o cinza e o

amálgama. Após 1 semana, o MTA cinza foi mais biocompatível que os demais cimentos testados. E, por fim, após 3 semanas, não houve diferença estatisticamente significativa entre o MTA branco, MTA cinza, o amálgama e o grupo controle.

A biocompatibilidade do MTA (ProRoot) e do cimento Portland acrescido de iodofórmio foi avaliada por Moraes et al. (2006) por meio de implantes de tubos de polietileno em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. Foram utilizados 18 ratos Wistar, que receberam três implantes cada animal; dois deles contendo os materiais testados e o terceiro permanecendo vazio, a fim de servir de controle. Após 7, 30 e 60 dias os animais foram mortos e os implantes, juntamente com os tecidos adjacentes, foram removidos e processados para análise microscópica. Aos 7 dias, os espécimes que apresentaram menor reação inflamatória foram os do grupo do cimento Portland acrescido de iodofórmio. Após 30 dias, as amostras do MTA apresentaram áreas sugestivas de calcificação distrófica. No período de 60 dias, o tecido conjuntivo observado no grupo controle mostrou-se em típico processo de reparo, com grande presença de fibras colágenas. Já nos espécimes do MTA, pode-se verificar a persistência de uma reação inflamatória classificada como moderada. Neste mesmo período, o cimento Portland acrescido de iodofórmio demonstrou um resultado similar ao acima descrito para o MTA, porém, a cápsula fibrosa analisada pareceu estar mais organizada. Com base nestes resultados, pode-se verificar que não houve diferença significativa entre os materiais testados, em nenhum dos 3 períodos.

Sumer et al. (2006) realizaram um estudo em tecido subcutâneo de ratos para avaliar a biocompatibilidade do amálgama, IRM, MTA (ProRoot) e MTA (ProRoot) com clorexidina. Tubos de polietileno foram preenchidos com os materiais e

implantados no dorso dos animais. A resposta inflamatória foi analisada após 15, 30 e 60 dias, bem como a espessura da cápsula fibrosa formada ao redor dos implantes. O amálgama, IRM e MTA acrescido de clorexidina apresentaram uma resposta inflamatória discreta em todos os períodos. Já o MTA causou uma reação inflamatória severa aos 15 dias, mas que foi decrescendo aos 30 e 60 dias. Os resultados obtidos permitiram concluir que todos os materiais testados mostraram-se bem tolerados pelos tecidos.

De Deus et al. (2007) realizaram um estudo para verificar a habilidade do cimento Portland, MTA Ângelus branco e MTA Bio de selar perfurações de furca em dentes humanos extraídos. Foram realizadas aberturas coronárias em 55 molares e, em seguida, realizada uma secção horizontal no terço médio das raízes. Para preencher os canais radiculares, bem como para selar a porção mais apical da raiz, foi usada resina composta. Então, foram feitas perfurações no centro do assoalho da câmara pulpar com auxílio de broca de nº 3. Os dentes foram divididos em 3 grupos de 15 cada, sendo que os dentes restantes serviram para compor o grupo controle. No grupo 1 a perfuração foi selada com MTA, no G2 com MTA Bio e no G3 com cimento Portland. Foi realizado teste de infiltração de fluidos e essa infiltração foi medida pelo movimento de uma bolha de ar. Os resultados mostraram que ocorreu infiltração em todas as amostras e que esse resultado foi bastante variável em todos os grupos experimentais, mas estatisticamente insignificante. De modo que os três cimentos demonstraram habilidade seladora similar e que nenhum é capaz de evitar a infiltração de fluidos.

De Deus et al. (2008) publicaram um estudo comparando a capacidade seladora de quatro cimentos usados como tampões apicais em dentes com forames apicais ampliados. Foram utilizados 70 incisivos centrais superiores que foram

divididos em 4 grupos de 15 amostras cada, mais um grupo controle composto por 10 dentes. Os forames foram ampliados com auxílio de brocas de Gates-Glidden da de número 6 a de número 1 em sentido coroa-ápice (crown-down) até que a broca de número 1 atravessasse o forame. No grupo 1 os forames foram selados com MTA Ângelus branco, no G2 com MTA Bio, no G3 com ProRoot MTA e no G4 com cimento Portland. As amostras foram submetidas ao teste de infiltração de fluidos para verificar a capacidade seladora dos materiais. A infiltração foi medida de acordo com a movimentação de uma bolha de ar que era avaliada a cada 10 minutos sob pressão constante de 50 cm H₂O. Os resultados mostraram que a movimentação de fluido ocorreu em todas as amostras, mas foi variável em todos os grupos experimentais. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Os resultados da infiltração de fluidos foram semelhantes em todos os grupos e todos os materiais permitiram que ela ocorresse.

Bernabé et al. (2007) realizaram um experimento em dentes de cães, para avaliar a resposta tecidual frente ao MTA cinza e ao cimento de óxido de zinco e eugenol como materiais retrobturadores. Vinte e quatro pré-molares de três cães tiveram seus canais radiculares acessados, suas polpas removidas e, então, permaneceram expostos ao meio oral por 180 dias a fim de se induzir a formação de lesões periapicais. Passado esse período, os canais foram preparados biomecanicamente. Metade dos espécimes foram secos, obturados e tiveram suas aberturas coronárias restauradas. A outra metade dos dentes permaneceu sem obturação e sem restauração coronária. Foram realizadas apicetomias dos 3 mm apicais seguido de retro preparos com pontas ultrassônicas. As retrocavidades foram preenchidas com MTA cinza e OZE. Depois de 180 dias os animais foram mortos para análise microscópica e avaliou-se a reação tecidual. Os resultados

mostraram que houve diferença estatisticamente significativa na reação inflamatória que ocorreu no grupo do MTA, que foi restaurado e o grupo do OZE que permaneceu aberto e o que permaneceu fechado. Não houve diferença entre os grupos MTA/ fechado e MTA aberto. Nenhum dos espécimes que receberam OZE, como material retrobturador, mostrou formação cementária, enquanto que todos os espécimes retrobturados com MTA mostraram esse evento. O MTA cinza ocasionou menor reposta inflamatória, quando usado como material retrobturador, mesmo quando os canais radiculares permaneceram vazios e as aberturas coronárias não restauradas.

Koulaouzidou et al. (2008) avaliaram, *in vitro*, o efeito citotóxico do ProRoot MTA, do MTA Ângelus, do Super EBA e do ionômero de vidro Vitrebond. Para isso utilizaram cultura de células de polpa dental de ratos e de fibroblastos pulmonares humanos. As células foram cultivadas e, em seguida, os materiais foram colocados em contato com as mesmas. A citotoxicidade dos materiais foi analisada em dois períodos experimentais distintos, sendo eles de 24 e 72 horas, e o teste utilizado foi o método colorimétrico XTT. Baseado nos resultados obtidos, pode-se observar que o ProRoot MTA e o MTA da Ângelus apresentaram resultados semelhantes, com leve supressão da atividade mitocondrial das células. O ionômero de vidro Vitrebond foi o material que apresentou maior efeito citotóxico seguido do Super EBA. Os resultados demonstraram que os cimentos ProRoot MTA e MTA Ângelus podem ser considerados biologicamente inertes.

O efeito de seis cimentos retrobturadores sobre fibroblastos C-3T3 foi avaliado por Al-Sa'eed et al. (2008). Os materiais testados foram o Retroplast, o Geristore, o Ketac Fil, o IRM, o Super EBA e o MTA. Dez discos de cada um dos cimentos foram colocados em meio de cultura de tecidos e levados a uma estufa sob

a temperatura de 37°C, onde permaneceram por 72 horas. Após 24, 48 e 72 horas aplicou-se o teste MTT para verificar a viabilidade das células quando em contato com cada um dos seis cimentos experimentais. Os resultados obtidos mostraram que o Retroplast, o Geristore e o Ketac Fil proporcionaram um aumento na proliferação celular que cresceu ao longo dos períodos experimentais (24, 48 e 72 horas), enquanto que o Super EBA causou a diminuição da viabilidade das células. O IRM e o MTA não afetaram a proliferação celular. Os resultados revelaram que a reação das células a diferentes materiais retrobturadores varia consideravelmente.

Coutinho-Filho et al. (2008) avaliaram a radiopacidade e a reação do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos frente ao MTA, Cimento Portland e Cimento Portland acrescido de Óxido de Bismuto. Foram utilizados 40 ratos que foram divididos em 5 grupos de 8 animais cada, sendo eles: G1- tubos de polietileno vazios, servindo como controle; G2- ProRoot MTA; G3- Cimento Portland; G4- Cimento Portland+ Óxido de Bismuto na proporção de 1:1; G4- Cimento Portland+ Óxido de Bismuto na proporção de 2:1. Os tubos de polietileno foram preenchidos com os materiais e, então, foram realizadas tomadas radiográficas dos mesmos com a finalidade de analisar a radiopacidade dos materiais. Depois, os tubos foram implantados no dorso dos animais. Decorridos 7 e 60 dias, os animais foram mortos e as peças coletadas para posterior análise histológica. Os resultados histológicos mostraram que não houve diferença quanto à reação tecidual causada pelos materiais, em ambos os períodos e que a referida reação permitiu classificá-los como materiais biocompatíveis nos períodos estudados.

Bramante et al. (2008) avaliaram a presença de arsênico em diversos tipos de agregados de trióxido minerais (MTA) e cimento Portland. Os materiais avaliados foram CPM, MTA Ângelus branco, MTA Ângelus cinza, MTA Obtura, ProRoot MTA,

um MTA experimental, cimento Portland branco e cinza. Foi verificado se a concentração de arsênico estava dentro do limite estabelecido pela ISO, que é de 2mg/kg de material. Após a análise, observou-se que todos os materiais testados apresentavam arsênico em sua composição. Apenas o MTA-Obtura, MTA Ângelus branco e o cimento Portland branco mostraram níveis de arsênico abaixo do limite estabelecido pela norma ISO- 9917.

Gomes-Filho et al. (2008) compararam a resposta tecidual do MTA Ângelus cinza e de um MTA experimental fotopolimerizável. Para a realização deste experimento foram feitos implantes de tubos de dentina e tubos de polietileno, preenchidos com os cimentos, no tecido subcutâneo de ratos. As amostras dos tubos de polietileno foram preparadas e coradas com H.E. para avaliação da intensidade da reação inflamatória. Já as amostras dos tubos de dentina serviram para investigação da presença de focos de mineralização, através de análise em microscópio de luz polarizada e técnica de Von Kossa. Após 30 e 60 dias os animais foram mortos para análise microscópica. Observou-se que o MTA cinza provocou reação inflamatória discreta aos 30 dias, com presença de linfócitos, macrófagos e algumas células gigantes. A intensidade dessa reação diminuiu aos 60 dias. Já nos espécimes de tubos de dentina preenchidos com o MTA, notaram-se áreas de calcificação distrófica Von Kossa positivas, em ambos os períodos analisados. O MTA fotopolimerizável ocasionou inflamação moderada aos 30 dias, que se reduziu no período de 60 dias. Em nenhum espécime, de nenhum período, foi observada a presença de áreas de calcificação Von Kossa positivas no grupo do MTA fotopolimerizável. Houve diferença estatisticamente significativa entre a reação inflamatória causada pelo MTA cinza e o MTA fotopolimerizável.

Asgary et al. (2008) compararam a resposta pulpar de dentes de cães frente a capeamento com Dycal (hidróxido de cálcio), com MTA e com um novo cimento endodôntico. Foram utilizados vinte e quatro dentes caninos de seis cães da raça *Beagle*. Os dentes tiveram suas polpas expostas por sua face vestibular, e então, receberam capeamento pulpar com os materiais testados. Decorridas oito semanas, os cães foram mortos e seus dentes e tecidos circunjacentes removidos para análise microscópica. Os critérios histológicos considerados foram o grau de reação inflamatória, formação de ponte de tecido mineralizado, presença de calcificações, necrose e presença de odontoblastos. A análise realizada mostrou que nos espécimes dos grupos MTA e do novo cimento endodôntico não houve presença de infiltrado inflamatório e, em 75% das amostras, havia se formado, completamente, uma ponte de tecido mineralizado. No grupo do Dycal foi observada presença de reação inflamatória e ponte de tecido mineralizado formada de modo incompleto em todos os casos. O MTA e o novo cimento endodôntico apresentaram resposta pulpar favorável frente ao capeamento, sendo melhor do que Dycal, principalmente quanto a formação de ponte de tecido mineralizado.

Vosoughhosseini et al. (2008) realizaram um estudo comparativo para verificar a quantidade de células inflamatórias presentes no tecido conjuntivo de ratos frente ao implante de MTA cinza e branco. Foram utilizados 50 ratos *Wistar* que receberam em seu dorso, implantes de tubos de polietileno preenchidos com os materiais. Como controle foram implantados tubos vazios. Os tempos experimentais foram de 7, 15, 30, 60 e 90 dias, quando, então, os animais foram mortos para realização de análise histológica. Após processamento histológico foram realizados cortes semi-seriados de 5µm de espessura, que foram corados com hematoxilina e eosina. As reações inflamatórias foram classificadas por escores de acordo com sua

intensidade: 0= ausência de células inflamatórias; 1= reação inflamatória leve (≤ 25); 2= reação moderada (25-125 células inflamatórias); 3= inflamação intensa (mais de 125 células inflamatórias). Os resultados mostraram que ambos os tipos de MTA provocaram reação inflamatória severa após 7 dias, diferindo significativamente dos espécimes do grupo controle. No entanto, não foi observada diferença significativa entre os cimentos testados após o período de 15 dias.

Gomes-Filho et al.(2009) compararam a capacidade do MTA Ângelus cinza, do Endo CPM Sealer e do cimento Sealapex de estimular a mineralização quando em contato com tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. Foram realizados implantes de tubos de polietileno preenchidos com os materiais. Após 7, 15, 30, 60 e 90 dias os animais foram mortos para análise microscópica. Alguns cortes foram corados com H.E., outros pela técnica de Von Kossa e outros permaneceram sem coloração para análise em luz polarizada. O Sealapex, aos 7, 15 e 30 dias, mostrou uma reação inflamatória moderada com predomínio de linfócitos e macrófagos. Essa reação foi se atenuando nos períodos de 60 e 90 dias. Granulações birrefringentes à luz polarizada e Von Kossa positivas foram observadas. As amostras do MTA cinza mostraram aos 7 dias infiltrado inflamatório classificado como moderado, que diminuiu em intensidade nos períodos de 15, 30, 60 e 90 dias. Também foram observadas granulações compatíveis com focos de mineralização. Os espécimes do Endo CPM Sealer apresentaram inflamação moderada aos 7 e 15 dias, que reduziu-se nos períodos seguintes. Granulações Von Kossa positivas também foram observadas nesse grupo. Os resultados permitem concluir que o mecanismo de ação dos três cimentos testados é similar.

2.2 Sealepox RP:

O cimento endodôntico cirúrgico Sealepox RP é um cimento experimental que vem sendo desenvolvido na disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru- Universidade de São Paulo, pelo professor Ivaldo Gomes de Moraes, sendo fruto de uma linha de pesquisa iniciada em 1984 por Moraes (MORAES, 1984) e Berbert. Durante seu desenvolvimento, o referido cimento passou por algumas mudanças em sua formulação, sendo anteriormente nomeado de MBLc e MBPc, precursores do Sealepox RP.

O Sealepox RP é um cimento à base de resina epóxica, contendo hidróxido de cálcio em sua formulação, e foi desenvolvido com a indicação de ser usado em obturações retrógradas (PAVAN, 1999) e em perfurações corono-radiculares (SILVA-NETO, 2002). Pavan et al. (1999) avaliaram, comparativamente, a capacidade de selamento, em dentes humanos extraídos, do polímero de mamona, do MBLc, do Super EBA e do ionômero de vidro Fuji II LC em retrobturações. Os resultados revelaram que o material que permitiu menor infiltração marginal foi o polímero de mamona, seguido do material experimental MBLc, do Fuji II LC e, por fim, o Super EBA. Entre o polímero de mamona e o cimento MBLc não houve diferença significativa.

Silva Neto et al. (2002) compararam a capacidade seladora e a adaptação marginal do MBPc, do ProRoot MTA, do MTA Ângelus e do Super EBA em perfurações de furca de molares humanos extraídos, através da infiltração da solução corante Rodamina B a 0,2% e a adaptação marginal por meio de análise em microscopia eletrônica de varredura. Os resultados mostraram que o MBPc e o Super EBA exibiram os menores índices de infiltração, sendo esses dados

estatisticamente significantes quando comparados ao MTA Ângelus e ao ProRoot MTA.

Siqueira et al. (2004) realizaram um estudo, *in vitro*, avaliando em dentes humanos extraídos, a infiltração bacteriana que ocorre quando o MBPc, o MTA Ângelus, ProRoot MTA e o cimento Portland são usados como materiais retrobturadores. Os materiais testados mostraram bom desempenho, ocorrendo penetração de bactéria em apenas um espécime de cada grupo experimental.

Cintra et al. (2006) avaliaram, quantitativa e qualitativamente, a resposta inflamatória e a formação óssea frente ao implante de tubos de polietileno em alvéolos de ratos, contendo o cimento experimental MBPc, comparando-o com o ProRoot MTA. Quarenta e oito ratos tiveram seus dentes extraídos e implantados em seus alvéolos tubos de polietileno preenchidos com os cimentos testados. Após 7, 15 e 30 dias, os animais foram mortos para posterior análise microscópica. Aos 7 dias, as amostras do grupo do MTA mostraram focos de necrose de coagulação e fragmentação nuclear na área que estava em íntimo contato com esse cimento. Neste mesmo grupo aos 15 e 30 dias, observaram-se zonas basofílicas irregulares, compatíveis com matriz para mineralização. O MBPc causou uma reação tecidual semelhante à vista no grupo do MTA; aos 7 e 15 dias o infiltrado inflamatório foi classificado como discreto, composto, principalmente, por macrófagos e linfócitos. Zonas basofílicas similares às encontradas nas amostras do MTA também foram observadas no grupo do MBPc, porém eram mais irregulares neste. Aos 30 dias, o MBPc permitiu neo-formação de tecido ósseo nas áreas adjacentes ao cimento, porém o reparo, assim como nos outros grupos, não havia se completado ainda. Os resultados demonstraram que os dois materiais tiveram comportamento biológico semelhante, sem diferença estatisticamente significativa.

Vasconcelos (2006) comparou o pH, a liberação de íons cálcio, o tempo de presa e a solubilidade do MBPc com vários cimentos. O MBPc apresentou pH alcalino e foi capaz de liberar íons cálcio em todos os períodos analisados, porém, nos dois testes, houve diminuição dos valores nos períodos mais longos. Com relação aos tempos de presa, esse cimento apresentou os maiores valores, tanto de presa inicial (121 minutos) como final (224 minutos), em média. Já o valor médio obtido no teste de solubilidade foi de 1,07%, enquadrando-se nas recomendações da ADA.

Orosco (2007) analisou a capacidade seladora e a adaptação marginal de tampões apicais confeccionados com diferentes materiais, sob a influência de três técnicas de obturação de canais radiculares. Os materiais testados foram: pasta L&C, MTA Angelus cinza, CPM e MBPc. Os resultados mostraram que o cimento MBPc apresentou os menores índices de infiltração da solução corante com diferença estatística significativa para os demais materiais; o cimento CPM apresentou os melhores resultados quando avaliada a adaptação às paredes do canal radicular, porém, sem significância estatística.

Miranda (2007) avaliou a citotoxicidade do cimento experimental MBPc e do MTA Branco Angelus®, em cultura de células L929, comparando-os com o ProRoot™ MTA cinza, que já está mundialmente estabelecido como material biocompatível. Os resultados revelaram grau 1 de citotoxicidade (leve) para os dois tipos de MTA ($p > 0,05$) e grau 2 (branda) para o MBPc ($p < 0,001$). Todas as amostras foram consideradas satisfatórias, pois nenhuma cultura exposta aos cimentos revelou toxicidade superior ao grau 2.

Vivan (2009) avaliou o pH, a liberação de íons cálcio, o tempo de presa, a solubilidade e a radiopacidade dos cimentos MTA branco Angelus, MTA Bio, MTA

fotopolimerizável (Bisco), Sealepox RP e clínquer de cimento Portland acrescido de 20% de óxido de bismuto e 5% de sulfato de cálcio. Os resultados obtidos demonstraram que todos os cimentos apresentaram pH alcalino e liberaram íons cálcio em todos os períodos, com tendência de redução nos períodos finais. Os cimentos MTA Branco Angelus e MTA Bio apresentaram tempo de presa menor, enquanto que o Sealepox RP apresentou os tempos mais longos. Em relação ao ensaio de solubilidade, o cimento que mais se aproximou das recomendações da ADA, foi o Sealepox RP, com valores próximos a 1%, enquanto que os cimentos MTA Angelus branco, MTA Bio e o Clínquer apresentaram valores maiores.

3 Proposição

---

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar a reação do tecido conjuntivo em contato com os cimentos MTA Branco (Angelus®); MTA Bio (Angelus®) e Sealepox RP (experimental), acondicionados em tubos de polietileno e implantados no tecido subcutâneo de ratos.

4 Material e Métodos

---

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAIS

4.1.1. ANIMAIS

Para a realização desse estudo, foram utilizados 54 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), adultos jovens, com peso entre 250 e 300 gramas, provenientes do Biotério da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP, mantidos em caixas plásticas coletivas, higienizadas, colocadas em ambiente arejado e iluminado naturalmente, recebendo água e alimentação constituída de ração comercial balanceada. Previamente ao início do experimento, o projeto de pesquisa foi submetido à apreciação do Comitê de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais (CEEPA – Protocolo nº 025/2007) e aprovado em 10/12/2007 (Anexado).

4.1.2 CIMENTOS

Foram utilizados três cimentos endodônticos, indicados para retrobturação, sendo dois da marca comercial Ângelus® (MTA Branco e MTA Bio) e o terceiro um cimento experimental (Sealepox RP).

4.1.2.1 MTA Branco Angelus® (Angelus Soluções Odontológicas - Londrina, Paraná, Brasil.)

(Figura 1)

Apresentação:

1 recipiente de vidro contendo 1g de pó

1 frasco plástico com bico dosador contendo 3mL de água destilada

Composição do pó:

SiO₂ – Dióxido de silício

K₂O – Óxido de potássio

Al₂O₃ – Alumina

Na₂O – Óxido de sódio

Fe₂O₃ – Óxido férrico

SO₃ – Trióxido de enxofre

CaO – Óxido de cálcio

Bi₂O₃ – Óxido de bismuto

MgO – Óxido de magnésio

Contém ainda, resíduos insolúveis de:

- Sílica cristalina
- Óxido de cálcio
- Sulfato de potássio e sódio

A proporção pó/líquido utilizada nos experimentos foi a mesma recomendada pelo fabricante, sendo, uma medida de pó para uma gota de água destilada. Após a manipulação daqueles componentes, obteve-se uma pasta arenosa, denominada pelo fabricante de gel coloidal, que se solidifica formando uma estrutura rígida.

4.1.2.2. MTA Bio Ângelus: (Figura 2)

Apresentação:

1 recipiente de vidro contendo 1g de pó

1 frasco plástico com bico dosador contendo 3mL de água destilada

Composição:

- Cimento Portland – 80%
- silicato tricálcico - 3CaO-SiO_2
- silicato dicálcico - 2CaO-SiO_2
- aluminato tricálcico – $3\text{CaO-Al}_2\text{O}_3$
- ferroaluminato tetracálcico - $4\text{CaO-Al}_2\text{O}_3\text{-Fe}_2\text{O}_3$
- Óxido de bismuto – Bi_2O_3 – 20%

A proporção pó/líquido utilizada nos experimentos foi a mesma recomendada pelo fabricante, sendo, uma medida de pó para uma gota de água destilada.

4.1.2.3. Sealepox RP (experimental): (Figura 3)

Apresentação:

1 frasco plástico contendo a pasta base;

1 frasco plástico contendo a pasta catalisadora.

Composição:

PASTA BASE:

- Hidróxido de cálcio
- Tungstato de cálcio
- Fosfato de cálcio
- Resina epóxica

PASTA CATALISADORA:

- Sulfato de bário
- Subnitrato de bismuto
- Endurecedor para resina epóxica
- Poliol de poliuretana vegetal de mamona

A proporção utilizada nos experimentos foi a recomendada pelo seu idealizador, ou seja, três partes de pasta base para uma da pasta catalisadora. Após a manipulação daqueles componentes, obteve-se uma massa de aspecto plástico e consistente. O tempo de presa inicial, segundo seu idealizador, é de 2 horas e 30 minutos e o final é de aproximadamente 4 horas.

4.1.3 TUBOS DE POLIETILENO

Foram utilizados 108 tubos de polietileno (Embramed Ind. Com. Ltda.) (Figura 4) com 1,5mm de diâmetro interno, 2,0mm de diâmetro externo e 10,0mm de comprimento, os quais foram esterilizados em autoclave. Uma das extremidades de cada um dos tubos foi preenchida com guta-percha (Dentsply – Petrópolis, RJ, Brasil) em uma extensão de, aproximadamente, 3 mm, servindo como controle.

4.1.4 ANESTESIA

Para a realização da anestesia dos animais foram empregados, como sedativo, Calmium® (Agener União), solução à base de Cloridrato de Xilazina (sedativo, analgético, anestésico e relaxante muscular) e Dopalen® (Vetbrands do Brasil Ltda. Paulínia, SP) (Figura 5), solução à base de Cloridrato de Ketamina (anestésico). Essas substâncias foram empregadas na proporção de 1 para 1, e na concentração de 0,1mL de solução para cada 100 gramas de peso do animal.

4.1.5 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os 54 ratos utilizados foram divididos em 3 grupos de 18 animais, de acordo com os materiais testados. Cada grupo foi composto por 6 animais para cada período experimental: 15, 30 e 60 dias (Tabela 01).

Tabela 1 – Distribuição dos grupos, cimentos e períodos experimentais.

GRUPOS	CIMENTOS	PERÍODOS		
		15 dias	30 dias	60 dias
1	MTA Branco Angelus®	6 ratos	6 ratos	6 ratos
2	MTA Bio Angelus®	6 ratos	6 ratos	6 ratos
3	Sealepox RP (experimental)	6 ratos	6 ratos	6 ratos

O Grupo 4 (controle) estava representado, em cada espécime, pela extremidade do tubo contendo guta-percha. Desse modo, foi considerado no experimento 6 amostras de controle para cada período experimental.

Figura 1- MTA Branco Ângelus®. **Figura 2-** MTA Bio Ângelus®.

Figura 3- Sealepox RP (experimental).

Figura 4- Tubos de polietileno fechados com gutta-percha em uma das extremidades.

Figura 5- Dopalen® (Cloridrato de Ketamina) e Calmiun® (Cloridrato de Xilazina).

4.2 MÉTODOS

4.2.1. PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

Para a realização dos procedimentos cirúrgicos os animais foram, inicialmente, pesados e, em seguida, anestesiados com injeção intramuscular de solução de Cloridrato de Xilazina e de Cloridrato de Ketamina associados. A anestesia foi realizada por injeção intramuscular na face posterior da coxa traseira. (Figura 6)

Em seguida, foi realizada a tricotomia (Figura 7) do dorso dos animais e anti-sepsia desta região com solução de PVPI (Povidini tópico – Johnson & Johnson S./A) (Figura 8). Os cimentos foram preparados (Figura 9) e inseridos nos tubos de polietileno com auxílio de um calcador endodôntico (Maillefer, Ballaigues, Suíça) (Figura 10), preenchendo um espaço de 7 mm, considerando que a outra extremidade encontrava-se preenchida com guta-percha em uma extensão de 3 mm. O cimento foi mantido rente à superfície da extremidade do tubo.

Foi realizada uma incisão longitudinal na região mediana do dorso de cada animal, com lâmina de bisturi nº 15 (Eletromed - Comércio de Materiais Médicos Cirúrgicos, Manaus, Amazônia, Brasil) (Figura 11). Com auxílio de uma tesoura de ponta romba, foi realizada a divulsão bilateralmente na área incisada (Figura 12). Após isso, os tubos de polietileno com os cimentos foram colocados em um trocarte (Figura 13), posicionados de modo que a extremidade com guta-percha estivesse voltada para o êmbolo do trocarte. O mesmo foi introduzido no espaço aberto pela divulsão, até atingir uma profundidade de, aproximadamente, 20mm, onde o tubo de

polietileno foi depositado. Esta introdução foi feita tomando cuidado para não perfurar nem dilacerar os tecidos, fazendo-se movimentos de cateterismo com uma pressão leve e dirigindo-se no sentido das extremidades traseiras dos animais. Cada animal recebeu dois implantes, um de cada lado de seu dorso, contendo o mesmo tipo de cimento (Figura 14). O lado selado com guta-percha serviu como controle.

Figura 6- Anestesia intramuscular na face posterior da coxa traseira.

Figura 7- Tricotomia da região dorsal.

Figura 8- Antissepsia com PVPI.

Figura 9- Preparação do cimento.

Figura 10- Preenchimento do tubo de polietileno com calcador.

Figura 11- Incisão mediana no dorso do animal.

Figura 12- Divulsão dos tecidos com tesoura de ponta romba.

Figura 13- Trocarte no momento da implantação do tubo.

Figura 14- Localização dos tubos de polietileno.

Figura 15- Sutura da incisão.

Em seguida procedeu-se a sutura das bordas da incisão com fio de seda 4.0 (Ethicon - Johnson&Johnson, Produtos Profissionais Ltda., São José dos Campos, SP) (Figura 15). Os animais foram acompanhados até que se recuperassem da anestesia, sendo observados diariamente para a verificação do comportamento, com a finalidade de evitar ocorrências que pudessem comprometer o experimento. A identificação dos animais foi realizada mediante pequenos recortes em suas orelhas, de acordo com os grupos experimentais. Os animais foram mantidos em caixas plásticas coletivas até completarem os períodos experimentais estabelecidos.

4.2.2. OBTENÇÃO DAS PEÇAS

Decorridos os períodos experimentais os animais foram novamente anestesiados e depilados em sua região dorsal. A seguir, foram mortos individualmente com uma dose excessiva da associação de cloridrato de ketamina e cloridrato de xilazina injetada no coração. Logo em seguida, os tubos implantados foram localizados por palpação, e essa área dissecada, abrangendo suficiente tecido normal circunjacente. Os tecidos contendo os tubos foram distendidos em papel cartão e fixados em solução de formol a 10% tamponado, em frascos unitários, com identificação do animal, grupo e período experimental correspondentes.

4.2.3. PROCESSAMENTO LABORATORIAL

As peças permaneceram na solução de formol a 10% por sete dias. Posteriormente, foram recortadas para remoção do excesso de tecido e lavadas em água corrente por 24 horas. Os tubos de polietileno foram removidos com auxílio de

lâmina de bisturi nº11. Este procedimento foi executado com extremo cuidado, pois a incisão deve ser firme e única evitando a dilaceração do tecido, como também o corte demasiado, principalmente na extremidade do tubo, região de interesse da investigação. Na extremidade selada com guta-percha (controle) foi realizada uma pequena marcação, a fim de identificá-la posteriormente. Concluída essa etapa, as amostras foram submetidas ao processamento histotécnico. As amostras foram incluídas em Histotec numa orientação fixa, para identificar as extremidades. Após a inclusão das amostras, foram realizados cortes microscópicos semi-seriados de 5µm de espessura num micrótomo Leica (Leica – Jung RM2045 – Leica Instruments Gmbh D-6907 – Alemanha). Estes cortes foram feitos no sentido longitudinal do tubo, com o objetivo de poder coletar numa mesma lâmina a extremidade que serviu como controle e a extremidade do cimento experimental, e corados pela técnica da Hematoxilina e Eosina (H.E.).

4.2.4. FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS

4.2.4.1. ANÁLISE DESCRITIVA

Descrição corrente das reações teciduais e tipos celulares adjacentes à superfície do material implantado em todos os grupos e períodos. Realizada no microscópio óptico Leitz Aristoplan. As fotomicrografias representativas da reação tecidual estão dispostas de modo que a sua porção superior corresponde à superfície em contato com o material implantado.

4.2.4.2. ANÁLISE MORFOMÉTRICA

Para a realização desta análise foram estabelecidos alguns critérios, como fibras colágenas, fibroblastos, vasos sanguíneos, células inflamatórias e de outras estruturas presentes no tecido conjuntivo capsular reacional.

A. Casualização dos campos microscópicos

Todos os métodos estereológicos são baseados em princípios geométricos – estatísticos –, derivados da probabilidade em que imagens dos perfis da estrutura na secção histológica coincidam com um sistema-teste apropriado. Deste modo, o ponto central destes métodos está na casualização das amostras, ou seja, a escolha das amostras do tecido a serem confrontadas com o sistema-teste, a qual deve ser realizada por meio de um método que elimine a ocorrência de vício na amostragem. Isto é conseguido pela aplicação do procedimento de casualização em todos os estágios do experimento, desde a escolha dos animais, da seleção dos blocos histológicos e da seleção dos cortes e cada lâmina a serem utilizados nas quantificações.

De cada amostra, foram obtidas 3 lâminas, contendo quatro cortes semi-seriados cada uma, com intervalos de 50µm entre cada lâmina e, de cada lâmina selecionada, foram escolhidos dois cortes histológicos para serem avaliados. Nos cortes analisados foram quantificados os critérios determinados em todos os campos microscópicos referentes à região capsular que estava em contato com os materiais testados.

B. Avaliação da densidade de volume (Vvi) das fibras, fibroblastos, células inflamatórias, vasos e outras estruturas.

Esses parâmetros histológicos foram avaliados com uma objetiva de imersão de 100X e um graticulo de integração II Zeiss colocado em uma ocular Kpl 8X, composta de dez linhas paralelas e de 100 pontos numa área quadrangular (Figura 16). A imagem do graticulo foi superposta, sucessivamente, a todos os campos histológicos presentes na região capsular, e anotados os número de pontos (Pi) que coincidiram sobre cada um dos critérios estabelecidos.

A densidade de volume (Vvi) foi determinada pela seguinte fórmula:

$Vvi = P_i/P$; onde P = número total de pontos.

Figura 16- Graticulo de integração II Zeiss sobre a imagem de um corte histológico.

4.2.4.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos valores obtidos para cada critério estabelecido foi realizada utilizando o programa "Statistica v. 5.1" (StatSoft Inc., Tulsa, USA). Para o estudo da comparação entre material e períodos de implantação aplicou-se a análise de variância a dois critérios (ANOVA), seguidos pelo teste de Tukey para comparações múltiplas entre os grupos dentro dos períodos e entre estes, para cada um dos critérios avaliados morfometricamente. Foi adotado 0,05 (5%) como nível de rejeição da hipótese de nulidade, ou seja, nível de significância.

5 Resultados

---

5 RESULTADOS

5.1 ANÁLISE DESCRITIVA

GRUPO 1- MTA BRANCO ANGELUS® -15 DIAS

Os espécimes representativos de todos os grupos mostraram a formação de uma estrutura capsular envolvendo o tubo implantado (Figura 17). A análise microscópica deste grupo demonstrou, em contato com o cimento testado, a formação de um tecido de granulação com ativa proliferação fibroblástica, presença marcante de fibras colágenas, moderada neoformação vascular e a presença sugestiva de células macrofágicas mononucleadas (Figura 18), as quais, em alguns casos, exibiam seu citoplasma vacuolado, indicando processo de fagocitose.

GRUPO 2- MTA BIO ÂNGELUS® -15 DIAS

Os espécimes examinados apresentaram a formação de tecido conjuntivo denso, delgado e de aspecto amadurecido com formação acentuada de fibras colágenas, fibroblastos, presença moderada de vasos sanguíneos, células macrofágicas mononucleadas em contato com o cimento (Figura 19). Surgimento discreto de células gigantes multinucleadas com citoplasma ora vacuolado, ora homogêneo. No espaço intersticial deste tecido notou-se imagens esparsas caracterizadas por pequenos focos de coloração escura, sugestivas de resquícios do cimento implantado.

GRUPO 3- SEALEPOX RP (EXPERIMENTAL)-15 DIAS

Os espécimes deste grupo demonstraram a neoformação de tecido conjuntivo denso e espesso na área em contato com o cimento experimental. Havia grande proliferação de fibroblastos, presença moderada de vasos sanguíneos e de fibras colágenas. No interior desse tecido e na porção periférica notou-se a presença de focos disformes de aspecto eosinofílico, compatíveis com material necrótico. Notou-se também, pequenas formações de coloração negra, sendo prováveis remanescentes do material implantado. A presença de células macrofágicas mononucleadas era uma constante, surgindo ainda as formações multinucleadas, cujo aparecimento foi moderado, ora com citoplasma homogêneo, ora com partículas fagocitadas (Figura 20).

GRUPO 4- CONTROLE-15 DIAS

Neste grupo, a microscopia revelou a formação de uma faixa de tecido conjuntivo denso em processo de amadurecimento, rica em fibroblastos, fibras colágenas e poucos vasos sanguíneos. Na superfície voltada para o material controle notou-se conglomerados de células do tipo macrofágicas (Figura 21). Alguns espécimes exibiram presença discreta de células gigantes multinucleadas.

Figura 17- Estrutura capsular do tubo de polietileno implantado (x2,5)

Figura 18- MTA Branco Ângelus® 15 dias- Fibras colágenas (✱); Fibroblastos (↑); Neoformação vascular (↑); macrófagos / células gignates (↑). (x40)

Figura 19- MTA Bio Ângelus® 15 dias- Fibras colágenas (+); Fibroblastos (↑); Vasos sanguíneos (↑); macrófagos / células gigantes (↑). (x40)

Figura 20- Sealepox RP 15 dias- Fibras colágenas (+); Fibroblastos (↑); macrófagos / células gigantes (↑); Imagens sugestivas de necrose tecidual (↑); remanescentes de cimento (↑).

(x40)

Figura 21- Controle 15 dias- Fibras colágenas (✱); Fibroblastos (↑); Vasos sanguíneos (↓); Células inflamatórias tipo macrofágicas (↑). (x 40)

GRUPO 1- MTA BRANCO ANGELUS®- 30 DIAS

Neste período, os espécimes examinados demonstraram a presença de tecido conjuntivo denso, delgado, de aspecto fibroso, com fibroblastos, fibrócitos, rico em fibras colágenas e presença esparsa de vasos sanguíneos. As células macrofágicas estavam presentes na porção periférica desse tecido, em contato com a superfície do cimento experimental (Figura 22). Havia predominância dos macrófagos mononucleados com citoplasma homogêneo ou vacuolado e também de células gigantes multinucleadas dispostas de maneira esparsa.

Um dos espécimes analisados revelou uma invaginação do tecido conjuntivo neoformado para o interior do tubo. No interior desse tecido foram visualizados conglomerados de material de coloração eosinofílica, dismorfo, sugerindo área necrótica, tendo de permeio imagens de coloração negra, compatíveis com vestígios do cimento testado. Envolvendo todas essas formações, observou-se um tecido conjuntivo denso, cuja morfologia se assemelhava àquela descrita anteriormente, isto é, do tecido posicionado na extremidade do tubo em contato direto com o cimento.

GRUPO 2- MTA BIO ÂNGELUS® - 30 DIAS

Os espécimes deste grupo demonstraram a presença de tecido conjuntivo com aspecto denso, espesso, bem celularizado, com predominância de fibroblastos e presença de fibras colágenas. A vascularização encontrava-se diminuída. Na porção periférica, em contato com o material teste, a presença de macrófagos foi uma constante, apresentando-se, algumas vezes, com citoplasma vacuolado (Figura 23).

GRUPO 3- SEALEPOX RP (EXPERIMENTAL)- 30 DIAS

Os espécimes representativos desse grupo demonstraram tecido conjuntivo reacional de aspecto delgado e fibroso. A presença de fibras colágenas era marcante, fibrócitos, diminuição da população fibroblástica e da formação angioblástica (Figura 24). Na periferia desta faixa tecidual, em contato com o cimento, a presença de macrófagos mononucleados era uma constante, os quais

estão dispostos em fileira. Em um dos espécimes ocorreu invaginação do tecido conjuntivo neoformado para o interior do tubo implantado. Tal ocorrência permitiu visualizar, no interior dessa estrutura tecidual, formações eosinofílicas homogêneas e disformes sugerindo ser material necrótico. De permeio a essas formações havia pequenos corpúsculos de cor escura sugestivos de micropartículas de material implantado. Foi observado ainda infiltração de macrófagos e formações de células gigantes multinucleadas. Esse tecido conjuntivo invaginado tinha morfologia semelhante àquela descrita anteriormente, isto é, que estava disposto na extremidade do tubo implantado em contato com o cimento em questão.

GRUPO 4- CONTROLE - 30 DIAS

Os espécimes deste período demonstraram um tecido conjuntivo de aspecto capsular, denso, com predominância de fibras colágenas, presença de fibroblastos, fibrócitos, vascularização escassa e na superfície voltada para o material notou-se células compatíveis com macrófagos (Figura 25).

Figura 22- MTA Branco Ângelus® 30 dias- Fibras colágenas (✦); Fibroblastos (↑);
macrófagos (↑). (x40)

Figura 23- MTA Bio Ângelus® 30 dias- Fibras colágenas (✦); Fibroblastos (↑); vasos
sanguíneos (↑); macrófagos (↑). (x40)

Figura 24- Sealepox RP (experimental) 30 dias- Fibras colágenas (✦); Fibroblastos (👉); Vasos sanguíneos (👈); macrófagos (👑). (x40)

Figura 25- Controle 30 dias- Fibras colágenas (✦); Fibroblastos (👉); Células macrofágicas (👑). (x40)

GRUPO 1- MTA BRANCO ÂNGELUS® - 60 DIAS

O exame microscópico dos espécimes deste grupo demonstrou a presença de uma faixa de tecido conjuntivo reacional de aspecto denso, delgado, rico em fibras colágenas, poucos vasos sanguíneos, células fibroblásticas e fibrócitos, formando uma autêntica cápsula de aspecto fibroso. Na superfície voltada para o cimento havia células do tipo macrofágicas com citoplasma homogêneo e/ou com vacúolo (Figura 26).

Em alguns espécimes notou-se a presença, de maneira esparsa, de pequenas estruturas de coloração negra, provavelmente resquícios do cimento implantado, formações eosinofílicas, amorfas, compatíveis com restos de material necrótico e células macrofágicas.

GRUPO 2- MTA BIO ÂNGELUS® - 60 DIAS

A análise microscópica desses espécimes demonstrou a formação de um tecido conjuntivo de estrutura delgada, rica em fibras colágenas, exibindo fibroblastos, fibrócitos e vascularização diminuída. Na periferia, voltada para a superfície do cimento experimental, foram observadas células macrofágicas mononucleadas com citoplasma íntegro ou vacuolado (Figura 27).

GRUPO 3- SEALEPOX RP (EXPERIMENTAL) - 60 DIAS

Nestes espécimes o exame microscópico revelou, de modo geral, tecido conjuntivo reacional de estrutura delgada, rico em fibras colágenas, presença moderada de fibroblastos, fibrócitos e poucos vasos sanguíneos e células macrofágicas esparsas (Figura 28).

GRUPO 4- CONTROLE - 60 DIAS

Os espécimes deste grupo revelaram um tecido conjuntivo denso e de aspecto fibroso. Sua estrutura, rica em fibras colágenas, tinha de permeio, fibroblastos, fibrócitos e vasos sanguíneos esparsos. Na superfície voltada para o material implantado notou-se algumas células do tipo macrofágicas (Figura 29).

Figura 26- MTA Branco Ângelus® 60 dias- Fibras colágenas (✱); Fibroblastos (↑); macrófagos (↑). (x40)

Figura 27- MTA Bio Ângelus® 60 dias- Fibras colágenas (✱); Fibroblastos (↑); vasos sanguíneos (↑); macrófagos (↑). (x40)

Figura 28- Sealepox RP (experimental) 60 dias- Fibras colágenas (✦); Fibroblastos (↑); vasos sanguíneos (↑); macrófagos (↑). (x40)

Figura 29- Controle 60 dias- Fibras colágenas (✦); Fibroblastos (↑); macrófagos (↑). (x40)

5.2 AVALIAÇÃO MORFOMÉTRICA

Os valores médios e desvio padrão obtidos para a densidade de volume (%) de fibras colágenas, fibroblastos, vasos sanguíneos, células inflamatórias e de outras estruturas encontradas no tecido conjuntivo capsular reacional, adjacente à superfície dos materiais implantados, nos diferentes períodos experimentais encontram-se dispostos na tabela 2.

Tabela 2 – Média e desvio padrão da densidade de volume (%) de fibras colágenas, fibroblastos, vasos sanguíneos, células inflamatórias e de outras estruturas encontradas no tecido conjuntivo capsular reacional adjacente à superfície dos materiais implantados nos três períodos de avaliação.

	15 dias	30 dias	60 dias
Grupo 1: MTA Branco			
Fibras Colágenas	51,08 ± 5,80	55,37 ± 5,68	69,02 ± 9,73
Fibroblastos	15,11 ± 3,48	6,86 ± 1,68	10,43 ± 2,00
Vasos sanguíneos	4,70 ± 3,94	2,22 ± 2,56	1,23 ± 0,65
Células inflamatórias	16,48 ± 7,46	15,09 ± 3,86	11,66 ± 5,10
Outros	12,63 ± 4,52	20,47 ± 2,98	7,66 ± 6,37
Grupo 2: MTA Bio			
Fibras Colágenas	54,53 ± 5,95	69,74 ± 4,34	74,01 ± 6,92
Fibroblastos	7,56 ± 3,73	7,99 ± 3,13	9,39 ± 2,55
Vasos sanguíneos	3,38 ± 2,65	1,43 ± 0,84	1,28 ± 1,21
Células inflamatórias	16,09 ± 4,20	12,93 ± 5,79	10,87 ± 4,21
Outros	18,44 ± 3,97	7,91 ± 1,85	4,46 ± 1,65
Grupo 3: Sealepox RP			
Fibras Colágenas	47,86 ± 8,43	60,84 ± 8,21	71,30 ± 11,66
Fibroblastos	8,34 ± 2,22	8,85 ± 3,16	7,48 ± 2,39
Vasos sanguíneos	3,91 ± 3,11	1,46 ± 0,48	1,52 ± 1,52
Células inflamatórias	20,40 ± 7,08	13,02 ± 2,68	12,42 ± 4,45
Outros	19,48 ± 2,28	15,82 ± 5,42	7,29 ± 5,65
Grupo 4: Controle			
Fibras Colágenas	61,93 ± 4,81	71,27 ± 4,85	77,60 ± 2,78
Fibroblastos	10,05 ± 2,32	12,49 ± 0,74	10,19 ± 2,32
Vasos sanguíneos	2,72 ± 1,25	1,99 ± 1,11	2,00 ± 0,96
Células inflamatórias	17,98 ± 5,26	8,11 ± 3,16	6,55 ± 2,84
Outros	7,32 ± 1,12	6,14 ± 2,39	3,66 ± 1,54

Tabela 3 - Comparação entre os grupos no período de 15 dias quanto aos critérios estabelecidos para a morfometria.

GRUPOS	FIBRAS	FIBROBLASTOS	VASOS	CÉLULAS	OUTROS
	COLÁGENAS		SANGUÍNEOS	INFLAMATÓRIAS	
1 X 2	Signif.	Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.
1 X 3	Não Signif.	Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.
1 X 4	Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.
2 X 3	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.
2 X 4	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Signif.
3 X 4	Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Signif.

Significante para $p < 0,05$

Tabela 4 - Comparação entre os grupos no período de 30 dias quanto aos critérios estabelecidos para a morfometria.

GRUPOS	FIBRAS	FIBROBLASTOS	VASOS	CÉLULAS	OUTROS
	COLÁGENAS		SANGUÍNEOS	INFLAMATÓRIAS	
1 X 2	Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Signif.
1 X 3	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.
1 X 4	Signif.	Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Signif.
2 X 3	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Signif.
2 X 4	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.
3 X 4	Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Signif.

Significante para $p < 0,05$

Tabela 5 - Comparação entre os grupos no período de 60 dias quanto aos critérios estabelecidos para a morfometria.

GRUPOS	FIBRAS COLÁGENAS	FIBROBLASTOS	VASOS SANGUÍNEOS	CÉLULAS INFLAMATÓRIAS	OUTROS
1 X 2	Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.
1 X 3	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.
1 X 4	Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.
2 X 3	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.
2 X 4	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.
3 X 4	Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.

Significante para $p < 0,05$

Tabela 6 - Comparação entre os períodos para o Grupo 1 (MTA Branco Angelus®) quanto aos critérios estabelecidos para a morfometria.

PERÍODOS	FIBRAS COLÁGENAS	FIBROBLASTOS	VASOS SANGUÍNEOS	CÉLULAS INFLAMATÓRIAS	OUTROS
15 X 30	Signif.	Signif.	Signif.	Signif.	Signif.
15 X 60	Signif.	Não Signif.	Signif.	Signif.	Não Signif.
30 X 60	Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Signif.

Significante para $p < 0,05$

Tabela 7 - Comparação entre os períodos para o Grupo 2 (MTA Bio Angelus®) quanto aos critérios estabelecidos para a morfometria.

PERÍODOS	FIBRAS COLÁGENAS	FIBROBLASTOS	VASOS SANGUÍNEOS	CÉLULAS INFLAMATÓRIAS	OUTROS
15 X 30	Signif.	Não Signif.	Signif.	Signif.	Signif.
15 X 60	Signif.	Não Signif.	Signif.	Signif.	Signif.
30 X 60	Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.

Significante para $p < 0,05$

Tabela 8 - Comparação entre os períodos para o Grupo 3 (Sealepox RP) quanto aos critérios estabelecidos para a morfometria.

PERÍODOS	FIBRAS COLÁGENAS	FIBROBLASTOS	VASOS SANGUÍNEOS	CÉLULAS INFLAMATÓRIAS	OUTROS
15 X 30	Signif.	Não Signif.	Signif.	Signif.	Não Signif.
15 X 60	Signif.	Não Signif.	Signif.	Signif.	Signif.
30 X 60	Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Signif.

Significante para $p < 0,05$

Tabela 9 - Comparação entre os períodos para o Grupo 4 (Controle) quanto aos critérios estabelecidos para a morfometria.

PERÍODOS	FIBRAS COLÁGENAS	FIBROBLASTOS	VASOS SANGUÍNEOS	CÉLULAS INFLAMATÓRIAS	OUTROS
15 X 30	Signif.	Não Signif.	Signif.	Signif.	Não Signif.
15 X 60	Signif.	Não Signif.	Signif.	Signif.	Não Signif.
30 X 60	Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.	Não Signif.

Significante para $p < 0,05$

Gráfico 1- Densidade de volume (%) das fibras colágenas presentes no tecido conjuntivo capsular reacional adjacente à superfície dos materiais implantados.

Gráfico 2- Densidade de volume (%) dos fibroblastos presentes no tecido conjuntivo capsular reacional adjacente à superfície dos materiais implantados.

Gráfico 3- Densidade de volume (%) dos vasos sanguíneos presentes no tecido conjuntivo capsular reacional adjacente à superfície dos materiais implantados.

Gráfico 4- Densidade de volume (%) das células inflamatórias presentes no tecido conjuntivo capsular reacional adjacente à superfície dos materiais implantados.

Gráfico 5- Densidade de volume (%) das demais estruturas presentes no tecido conjuntivo capsular reacional adjacente à superfície dos materiais implantados.

6 Discussão

---

6 DISCUSSÃO

6.1 DA METODOLOGIA:

O modelo animal experimental utilizado neste estudo foi o rato da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), denominado de rato de laboratório, que é um dos animais mais comumente utilizados em pesquisas bio-médicas. Possuem um metabolismo acelerado, o que permite a obtenção de resultados em um curto período de tempo (MORETTON et al., 2000). Segundo Costa et al. (2001), há outras vantagens em sua utilização, como: necessidade de uma pequena área para sua manutenção; facilidade de limpeza e higienização desta área; possibilidade de trabalho em vários animais em curto período de tempo; baixo custo, entre outras. Além disso, esses animais são os que apresentam o menor risco de infecção pós-operatória quando comparados aos demais animais experimentais (INGLE; GRIFFITH, 1949; GUTTUSO, 1963). Essas vantagens fazem com que este modelo animal seja amplamente utilizado para pesquisas *in vivo*, na área odontológica (HOLLAND et al., 1999b; MORETTON et al., 2000; MOTTA, 2003; KOWALSKI, 2004; YALTRIK et al., 2004; VOSOUGHHOSSEINI et al., 2008; GOMES-FILHO et al., 2009).

Entre os outros métodos preliminares recomendados para a avaliação da biocompatibilidade de cimentos retrobturadores, além do tecido subcutâneo, estão os testes de citotoxicidade em cultura de células (TORABINEJAD et al., 1995; KOH et al., 1997; KOH et al., 1998; OSÓRIO, 1998; MITCHELL et al., 1999; KEISER et al., 2000; WILLERSHAUSEN, 2000; ZHU et al., 2000; THOMSON, 2001; ANTUNES, 2002; ASRARI, 2003; HAGLUND, 2003; SHIN, 2003; THOMSON et al., 2003;

KOULAOUZIDOU et al., 2005; AL-SA'EED et al., 2008;) , em tecido ósseo (TORABINEJAD; HONG; PITT FORD; KAIYAWASAM, 1995; TORABINEJAD et al., 1998; MORETTON et al., 2000; SOUSA et al., 2004), em alvéolos de ratos (CINTRA et al., 2006), em dentes de cães (HONG, 1994; PITT-FORD et al., 1995; TORABINEJAD et al., 1995; ABEDI, 1996; SOARES, 1996; JUNN, 1998; HOLLAND et al., 1999a; MORANDI, 1999; SHABAHANG et al., 1999; FARACO JUNIOR; HOLLAND, 2001; HOLLAND; et al., 2001; HOLLAND et al., 2001; HOLLAND et al., 2001; BERNABÉ, 2004; MENEZES et al., 2004; BAEK 2005;PLENK; KIM, 2005; MYERS, 1996; BERNABE et al., 2007; ASGARY et al., 2008), em dentes de macacos (ABEDI, 1996; PITT FORD, 1996; TORABINEJAD et al., 1997) ou em outros animais experimentais (DUMSHA; HOLT, 2000), e, por fim, os testes realizados em humanos (AEINEHCHI et al., 2003; AEINEHCHI et al., 2007), só quando os materiais já foram, anteriormente, aprovados nos modelos animais.

O uso de tubos de polietileno é um recurso metodológico comprovadamente satisfatório para o teste de biocompatibilidade (MOTTA, 2003; KOWALSKI, 2004; YALTRIK et al., 2004; MORAIS et al., 2006; SHAHI et al., 2006; SUMER et al., 2006;COUTINHO-FILHO et al., 2008; GOMES-FILHO; BERNABE et al., 2008; VOSOUGHHOSSEINI et al., 2008; GOMES-FILHO et al., 2009). Apresenta a vantagem, muito importante, que é o contato dos materiais testados com o tecido conjuntivo, simulando a condição clínica de um canal radicular, além disso, o material, dentro dos tubos de polietileno, não se espalha pelos tecidos, mantendo-se estabilizado a ponto de permitir uma padronização dos resultados e proporcionar uma área suficiente para a análise microscópica.

Outra vantagem do polietileno é a sua biocompatibilidade. O primeiro estudo data da década de 60, quando Torneck (1966) avaliou sua reação em tecido

conjuntivo de ratos. Os resultados mostraram a formação de uma cápsula fibrosa, ao redor da área do implante, rica em fibroblastos e fibras colágenas. Não foi observada presença de inflamação na área, o que indicava a aceitabilidade biológica do material. Em 1981, a implantação de tubos de polietileno contendo materiais endodônticos foi elaborada, avaliada e comprovada por Olsson et al. (1981). Esse método encontra-se de acordo com as especificações da ADA (1982), que o indica para os testes de biocompatibilidade de materiais. Desde 1980, conforme (STANFORD, 1980), a FDI (Fédération Dentaire Internationale) indica este teste para avaliar *in vivo* a toxicidade dos materiais quando se deseja um contato prolongado com os tecidos subcutâneos. Muitos estudos foram realizados, desde então comprovando a excelente resposta tecidual frente aos tubos de polietileno (MOTTA, 2003; KOWALSKI, 2004; YALTRIK et al., 2004; CINTRA et al., 2006; MORAIS et al., 2006; SHAHI et al., 2006; SUMER et al., 2006; COUTINHO-FILHO et al., 2008; GOMES-FILHO; DE FARIA et al., 2008; VOSOUGHHOSSEINI et al., 2008; GOMES-FILHO et al., 2009).

No presente estudo, realizaram-se dois implantes por animal, ambos contendo o mesmo material. Essa opção foi feita a fim de se evitar uma possível interferência na resposta tecidual de um cimento em relação à do outro.

Apesar de inúmeros trabalhos utilizarem como controle um tubo de polietileno vazio (PHILLIPS, 1967; KOLOKURIS et al., 1996; GORDUYSUS; ETIKAN; GOKOZ, 1998), optamos por selar uma de suas extremidades com guta-percha, e usá-la como controle, uma vez que os resultados biológicos dessa substância já são muito conhecidos, consagrando-a quanto à sua biocompatibilidade (HUNTER, 1957; SPANGBERG; LANGELAND, 1973; HOLLAND, 1975; WOLFSON; SELTZER, 1975; LEONARDO et al., 1990; SHIN, 2003; NOETZEL, 2006). Além disso, a guta-percha

é um dos materiais utilizados, rotineiramente, em nossos dias para a obturação de canais radiculares.

Com o objetivo de se minimizar o trauma cirúrgico, utilizou-se um trocarte para auxiliar nos implantes subcutâneos. Esse método tem sido proposto por Poshadley e Harrison (1966), Safavi et al. (1983). Além disso, o trocarte facilita a implantação do tubo no local desejado de forma rápida e não agressiva. Durante a realização dos implantes, tomamos cuidado para que a guta-percha sempre fosse a extremidade em contato com o êmbolo do trocarte, para evitar a possibilidade de deslocar o cimento, recém manipulado, da extremidade do tubo. Apesar desse cuidado, foi possível observarmos, assim como Bortoluzzi (2005), que em alguns casos ocorreu falha no nivelamento do material em relação à extremidade do tubo. Nesses casos houve invaginação do tecido conjuntivo para o seu interior.

Uma desvantagem apresentada pela implantação subcutânea de tubos de polietileno é a possibilidade de existir uma resposta inflamatória em decorrência de sua movimentação neste tecido. Contudo, o fato de observarmos a formação de uma cápsula fibrosa ao seu redor nos leva a acreditar que essa movimentação foi limitada (OLSSON; SLIWKOWSKI; LANGE LAND, 1981).

A FDI (STANFORD, 1980) recomenda um período curto de 14 dias e longo de 84 dias para a avaliação da reação do tecido conjuntivo de animais em contato com materiais experimentais e controle. Já para a ADA (1982), esses períodos podem variar entre 7-10, 21-35 e 60-80 dias. Na literatura observam-se os mais variados períodos: 7, 15 e 30; 7, 30 e 60; 15, 30 e 60, e, por isso, acredita-se que não haja uma norma inflexível para esses tempos experimentais. No caso deste experimento, as análises foram realizadas aos 15, 30 e 60 dias à semelhança de outros trabalhos em tecido subcutâneo (MORETTON et al., 2000; CINTRA et al., 2006; SUMER et al.,

2006; MAGRO-KATO, 2007; ORTÍZ-OROPEZA, 2007). Moretton et al. (2000) afirmaram que o período de 60 dias é suficiente para avaliar respostas teciduais a longo prazo no tecido conjuntivo de ratos, uma vez que 1 mês de vida do animal equivale a 30 meses de vida de um ser humano, tomando por base a expectativa de vida máxima de cada uma dessas espécies.

Segundo Olsson et al. (1981), os tubos de polietileno, contendo os materiais, não devem ser removidos para que seja feito o processamento histotécnico e os cortes histológicos. Isso porque eles acreditam que durante a remoção possa, acidentalmente, remover-se a interface tecidual mais importante adjacente ao implante. Desta maneira, esses autores indicam que os cortes histológicos sejam feitos com os tubos *in situ*. Apesar disso, neste experimento os tubos foram removidos das peças após essas terem permanecido por 7 dias em formol a 10%, 24 horas em água corrente e 1 hora em álcool 70%. Essa remoção foi feita de forma extremamente cautelosa e apresentou certo grau de dificuldade pela fragilidade do tecido em questão. Mesmo com todos os cuidados tomados, houve casos em que ocorreu a fragmentação da cápsula tecidual e a amostra precisou ser eliminada e substituída. Essa conduta está em comum acordo com as recomendações da ADA (1982) que afirma que os tubos devem ser removidos quando preenchidos com materiais insolúveis e duros, que possam danificar a lâmina do micrótomo.

Após o processamento histotécnico, realizaram-se cortes semi-seriados de 5µm de espessura, como é preconizado pela ADA (1982), no sentido do longo eixo do tubo e de forma a obtermos cortes que apresentavam suas duas extremidades, o que permitiu a avaliação do material teste e do controle em uma mesma lâmina.

A avaliação da biocompatibilidade do MTA branco, da empresa Angelus, foi proposta em função de ser um material de fabricação nacional que tem se mostrado

uma ótima alternativa em relação aos seus similares importados. Além do mais, atualmente, o MTA (branco e cinza) desta empresa é a única opção comercializada nacionalmente. Alguns estudos já foram publicados na literatura testando sua resistência à infiltração (CONEGLIAN et al., 2007; DE-DEUS et al., 2007; DE-DEUS et al., 2008), tamanho e formato de suas partículas (KOMABAYASHI; SPANGBERG, 2008), adaptação marginal (COSTA et al., 2009), presença de arsênico (DUARTE, 2005; BRAMANTE, 2008), citotoxicidade (RIBEIRO et al., 2006), atividade antimicrobiana (TANOMARU-FILHO et al., 2007; LUCZAJ-CEPOWICZ et al., 2008; TANOMARU et al., 2008) e radiopacidade (TANOMARU-FILHO et al., 2008). Porém, não há na literatura estudos avaliando a biocompatibilidade do MTA branco, da Angelus, em tecido subcutâneo de ratos, o que nos levou a crer que foi bastante oportuno avaliá-la.

A opção de testarmos o cimento MTA Bio (experimental), fabricado pela mesma empresa, anteriormente citada, foi baseada na informação de seu próprio fabricante, que alega que este material apresenta um grau de pureza superior aos demais MTAs, uma vez que ele não é fabricado à partir do cimento Portland, fato que elimina a inconveniente presença de arsênico e chumbo em sua composição (DE-DEUS et al., 2007; DE-DEUS et al., 2008). Sob esse ponto de vista, o uso clínico do MTA Bio teria vantagens sobre os demais MTAs. A literatura apresenta trabalhos que avaliaram sua capacidade de prevenir infiltrações (DE-DEUS et al., 2007; DE-DEUS et al., 2008) e sua citotoxicidade sobre células odontoblastóides (LESSA, 2006). Contudo, não existe nenhum trabalho na literatura que comprove sua reação tecidual *in vivo*.

Em relação ao Sealepox RP, é oportuna a realização de testes de biocompatibilidade uma vez que se trata de uma nova formulação de um cimento

epóxico, que vem sendo desenvolvido para ser aplicado em retrobturações e perfurações, e que não possui na literatura experimentos que asseguram seu comportamento biológico. Seu precursor MBPc foi testado em alvéolo de ratos (CINTRA et al., 2006) e quanto à sua citotoxicidade em cultura de fibroblastos de ratos (MIRANDA, 2007).

6.2 DOS RESULTADOS:

Nos estudos que avaliam a resposta do tecido conjuntivo frente à implantação de materiais, a formação de uma cápsula fibrosa ao redor do implante sugere que o mesmo é bem tolerado pelos tecidos (YALTRIK et al., 2004; COUTINHO-FILHO et al., 2008). Todos os espécimes analisados, neste experimento, mostraram a formação de cápsula fibrosa, indicando atividade reparadora, desde o período de 15 dias. Essa reparação foi caracterizada pela proliferação fibro-angioblástica e formação de fibras colágenas (Tabela 2 e Gráficos 1, 2 e 3). O parâmetro utilizado, entre os materiais testados, foi a guta-percha (controle), que mostrou, em todos os períodos avaliados, uma maturidade tecidual mais avançada quando comparada aos demais grupos, semelhante aos resultados de Bodrumlu et al. (2008). Aos 15 dias os grupos experimentais e controle evidenciaram maior quantidade de células inflamatórias em relação aos períodos de 30 e 60 dias. Os espécimes do grupo controle, nesses dois períodos, foram os que demonstraram a menor densidade de volume de células inflamatórias, 8,11% aos 30 dias e 6,55% aos 60 dias (Tabela 2). Apesar de haver distinção entre os valores de células inflamatórias observado nos

grupos experimentais e controle, não houve diferença significativa (Tabelas 3, 4 e 5); e entre os grupos experimentais, dentro dos períodos estabelecidos, também não ocorreu diferença significativa (Tabelas 3, 4 e 5). Dentro, ainda, do critério densidade de volume de células inflamatórias, a comparação de todos os grupos experimentais, entre seus períodos, demonstrou diferença significativa entre 15 X 30 e 15 X 60 dias (Tabelas 6, 7, 8 e 9). Essas diferenças estão relacionadas à diminuição da intensidade da reação inflamatória, indicando a perda gradativa da ação agressiva das substâncias testadas, da mesma forma já observada em relatos da literatura (MORETTON et al., 2000; MOTTA, 2003; YALTRIK et al., 2004; SUMER et al., 2006; GOMES-FILHO; BERNABE et al., 2008; VOSOUGHHOSSEINI et al., 2008; GOMES-FILHO et al., 2009).

O cimento que apresentou, aos 15 dias, a reação inflamatória com valor mais baixo foi o MTA Bio (grupo 2), com uma média de 16,09% (Tabela 2). Esse valor foi 1,27 vezes menor do que o resultado obtido com o cimento Sealepox RP (grupo 3), cuja reação inflamatória foi a mais severa, nesse período, 20,40%. Todavia essa diferença não foi significativa (Tabela 3). As células inflamatórias predominantes foram macrófagos e células gigantes multinucleadas.

A reação inflamatória inicial mais severa observada frente ao Sealepox RP se justifica pelo fato de se tratar de um cimento com base resinosa. Há relatos na literatura de que a resina tem, inicialmente, um maior potencial irritante (RATHBUN et al., 1991; OZBAS et al., 2003;). Apesar dessa resposta indesejável aos 15 dias, o infiltrado inflamatório aos 30 dias já havia diminuído 1,57 vezes e aos 60 dias, mais 1,05 vezes (Tabela 2), apresentando uma reação inflamatória, no último período, com diferença não significativa (Tabela 5) em relação ao cimento MTA Bio (grupo 2).

Scarpato et al. (2009) avaliaram a resposta do tecido subcutâneo de ratos frente a implantes de tubos de polietileno contendo cimento à base de resina epóxica (AH Plus), à base de resina metacrilato (EndoRez) e cimento de óxido de zinco e eugenol (EndoFill), em períodos experimentais de 7, 30 e 60 dias. Observaram que o cimento epóxico apresentou uma reação inflamatória que foi decrescendo com o tempo, à semelhança do que foi visto no seu grupo controle (tubo vazio). O AH Plus, estudado pelos autores, possui uma base de resina epóxica, da mesma forma que o cimento Sealepox RP avaliado neste estudo. Os resultados obtidos pelo referido autor, foram semelhantes àqueles obtidos com o Sealepox RP.

Em uma pequena porcentagem das amostras foi observada uma quantidade significativa de cimento extravasado. Este material disperso, em contato com o tecido conjuntivo causou um afluxo de células inflamatórias mais intenso, ocorrendo, ainda, até focos de necrose, circunscritos por uma grande quantidade de macrófagos e células gigantes multinucleadas. Os resíduos de material experimental mostravam-se nos cortes histológicos como esferas de coloração negra. Tanto as partículas de cimento quanto os focos de necrose foram classificados como “outras estruturas” durante a análise morfométrica. Olsson et al. (1981) sugeriram que o extravasamento de material pode ser provocado em consequência da movimentação do animal, que faria com que os tubos implantados também se deslocassem. Esse deslocamento levaria partículas do cimento, que ainda não tomou sua presa final, para fora do tubo, ou seja, para a intimidade do tecido adjacente. Segundo Moraes et al. (2001), quando ocorre esse extravasamento, a área de contato do material com o tecido conjuntivo aumenta, e, portanto, a reação inflamatória é intensificada, tanto devido à irritação química, quanto devido à irritação física.

A densidade de volume de fibras colágenas foi um evento histológico que apresentou diferenças significantes entre alguns grupos experimentais e entre todos os períodos analisados. Os grupos 2 (MTA Bio) e 4 (controle), em todos os períodos, apresentaram diferenças significantes em relação ao grupo 1 (MTA Branco), e o grupo 4 apresentou, também, essa diferença, de modo significante, com relação ao grupo 3 (Sealepox RP), de acordo com as tabelas 3, 4 e 5. Tomando por base o grupo 4 (controle), que produziu a maior densidade de volume de fibras colágenas, em todos os períodos, seguido pelo grupo 2 (MTA Bio), conforme a tabela 2, cuja diferença entre ambos não foi significante, tabelas 3, 4 e 5, pode-se dizer, então, que entre os cimentos testados, o MTA Bio (Grupo 2) apresentou o melhor desempenho entre os grupos experimentais, seguido pelo Sealepox RP (Grupo 3), que não apresentou diferença significante em relação ao MTA Bio e o MTA Branco (Tabelas 3, 4 e 5). Desse modo, entre os cimentos, os valores da densidade de volume de fibras colágenas (Tabela 2), comparando os grupo 1 X 3 e 2 X 3, foram equivalentes.

A comparação entre os períodos, dentro de cada um dos grupos, demonstrou significância em todos os cimentos testados e no grupo controle (Tabelas 6, 7, 8 e 9). A densidade de volume de fibras colágenas foi aumentando gradativamente, de acordo com os períodos estabelecidos (Gráfico 1), em sintonia com os resultados de Scarparo et al. (2009), proporcionando uma organização da cápsula fibrosa, indicativo de processo de reparo ou envolvimento fibroso do corpo estranho.

Com relação à quantidade de fibroblastos encontrados, houve proliferação significantemente maior no grupo 1 (MTA Branco) em relação aos grupos 2 (MTA Bio) e 3 (Sealepox RP), aos 15 dias. Aos 30 dias, o grupo 4 (controle) superou de modo significante a produção de fibroblastos em relação ao grupo 1 (MTA Branco).

E aos 60 dias, a produção de fibroblastos igualou-se entre os grupos, pois as diferenças encontradas foram não significantes (Tabela 5). Na comparação entre os períodos, ocorreu diferença significativa apenas no grupo 1 (MTA Branco) entre os períodos de 15 e 30 dias (Tabela 6), e no restante dos períodos não houve significância em nenhum grupo (Tabelas 7 e 8). Tais resultados revelaram que as oscilações na proliferação fibroblástica que ocorreram entre os grupos, foram apenas aos 15 e aos 30 dias. Todos os cimentos e o controle apresentaram uma reação tecidual equivalente aos 60 dias, o que pode ser visualizado no gráfico 2, sem haver diferenças significantes (Tabela 5). A proliferação de fibroblastos, um dos elementos do tecido de granulação, significa o desenvolvimento do processo de reparo, pois sua atividade metabólica está direcionada para a produção dos precursores das fibras colágenas (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000).

A neoformação angioblástica, em conjunto com a proliferação fibroblástica, é um evento fundamental para o desenvolvimento do processo de reparo. O aporte sanguíneo adequado é imprescindível para a atividade metabólica dos fibroblastos (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000). Aos 15, 30 e 60 dias todos os grupos experimentais e o controle exibiram neoformação vascular semelhante, considerando que as diferenças encontradas foram insignificantes (Tabelas 3, 4 e 5). Entre os períodos estudados, dentro de todos os grupos, a densidade de volume dos vasos sanguíneos apresentou diferenças significantes entre os períodos de 15 e 30 dias e 15 e 60 dias (Tabelas 6, 7, 8 e 9). Essa significância entre o período inicial e final revela processo de reparo por fibrose em andamento, à medida que há aumento de colágeno a vascularização diminui semelhante ao relatado, anteriormente, por outros autores (SHAHI, 2006; MAGRO-KATO, 2007; ORTÍZ-OROPEZA, 2007). Essa característica de tecido conjuntivo mais fibroso, com

diminuição da vascularização é condizente com um estágio mais avançado no processo de reparo, que é descrito em detalhes por Cotran et al. (2000).

Foram consideradas outras estruturas presentes no tecido conjuntivo subcutâneo, como focos de necrose, partículas residuais de material implantado e substância fundamental intercelular. Como era esperado, a guta-percha foi o material que apresentou a menor porcentagem de “outras estruturas”, em todos os períodos analisados (Tabela 2). Isso porque não foi observado, em nenhum dos espécimes desse grupo, resíduos de material e nem focos de necrose, eventos que foram observados em algumas amostras dos demais grupos. E por conta da detecção dessas outras estruturas nos demais grupos experimentais, em diferentes intensidades, a significância foi variável nos períodos de 15 e 30 dias (Tabelas 3 e 4). Entretanto, aos 60 dias tais diferenças (Tabela 2) não foram significantes entre os grupos (Tabela 5) e a quantidade das denominadas “outras estruturas” diminuiu drasticamente (Gráfico 5). Na comparação entre os períodos, quanto a presença de “outras estruturas” nos grupos experimentais, a significância desses resíduos foi muito variável (Tabelas 6, 7 e 8), exceto nos períodos do grupo 4 (controle), onde as diferenças foram não significantes (Tabela 9).

Todos os materiais implantados provocaram reação tecidual, como infiltrado inflamatório, proliferação fibro-angioblástica e formação de fibras colágenas. Tais reações, aos 60 dias, demonstraram um comportamento condizente com o mecanismo de reparo (COTRAN; KUMAR; COLLINS, 2000): diminuição gradativa do infiltrado inflamatório (Gráfico 4) e aumento de fibras colágenas (Gráfico 1).

7 Conclusões

---

7 CONCLUSÕES

Com base na metodologia empregada, respeitando suas limitações, e considerando-se os resultados obtidos pode-se concluir que:

- 1- Todos os cimentos analisados produziram respostas inflamatórias semelhantes, sem diferença estatisticamente significativa entre si.
- 2- O Sealepox RP e o MTA Bio foram os materiais que provocaram a maior e menor reação inflamatória no período de 15 dias, respectivamente, porém a diferença foi insignificante.
- 3- Todos os cimentos retrobturadores testados provocaram reações teciduais, que permitem classificá-los como biocompatíveis.

Referências

REFERÊNCIAS

Abedi HR e Ingle JI. Mineral trioxide aggregate: a review of a new cement. J Calif Dent Assoc. 1995 Dec;23(12):36-9.

Abedi HR. The use mineral tri-oxide aggregated cement (MTA) as a direct pulp capping agent. J Endod. 1996 Apr;22(4):199.

Adamo HL, Buruiana R, Schertzer L e Boylan RJ. A comparison of MTA, Super-EBA, composite and amalgam as root-end filling materials using a bacterial microleakage model. Int Endod J. 1999 May;32(3):197-203.

Aeinehchi M, Dadvand S, Fayazi S e Bayat-Movahed S. Randomized controlled trial of mineral trioxide aggregate and formocresol for pulpotomy in primary molar teeth. Int Endod J. 2007 Apr;40(4):261-7.

Aeinehchi M, Eslami B, Ghanbariha M e Saffar AS. Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium hydroxide as pulp-capping agents in human teeth: a preliminary report. Int Endod J. 2003 Mar;36(3):225-31.

Al-Sa'eed OR, Al-Hiyasat AS e Darmani H. The effects of six root-end filling materials and their leachable components on cell viability. J Endod. 2008 Nov;34(11):1410-4.

American Dental Standards/ American Dental Association. Document n° 41 for recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. New York, ANSI/ ADA, 1982.

Andelin WE, Shabahang S, Wright K e Torabinejad M. Identification of hard tissue after experimental pulp capping using dentin sialoprotein (DSP) as a marker. J Endod. 2003 Oct;29(10):646-50.

Antunes FPGCea. Avaliação *in vitro* da citotoxicidade do MTA e do Super EBA em cultura de fibroblastos embrionários. . Braz Oral Res. 2002;16 (Supplement):99.

Apaydin ES, Shabahang S e Torabinejad M. Hard-tissue healing after application of fresh or set MTA as root-end-filling material. J Endod. 2004 Jan;30(1):21-4.

Arens DE e Torabinejad M. Repair of furcal perforations with mineral trioxide aggregate: two case reports. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1996 Jul;82(1):84-8.

Asgary S, Eghbal MJ, Parirokh M, Ghanavati F e Rahimi H. A comparative study of histologic response to different pulp capping materials and a novel endodontic cement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008 Oct;106(4):609-14.

Asrari ML, D. Mechanism of *in vitro* neurotoxicity of root-end filling materials. *J Endod*. 2003 Nov;29(11):743-6.

Baek SH, Plenk H, Jr. e Kim S. Periapical tissue responses and cementum regeneration with amalgam, SuperEBA, and MTA as root-end filling materials. *J Endod*. 2005 Jun;31(6):444-9.

Bernabé PFE e Holland R. Cirurgia Parendodôntica: como praticá-la com embasamento científico. In: Estrela C, *Ciência Endodôntica*. São Paulo: Artes Médicas 2004. p. 657-797.

Bernabé PFE, Gomes-Filho JE, Rocha WC, Nery MJ, Otoboni-Filho JA e Dezan-Junior E. Histological evaluation of MTA as a root-end filling material. *Int Endod J*. 2007 Oct;40(10):758-65.

Bernabé PFE, Holland R, Morandi R, de Souza V, Nery MJ, Otoboni-Filho JA, et al. Comparative study of MTA and other materials in retrofilling of pulpless dogs' teeth. *Braz Dent J*. 2005;16(2):149-55.

Bernabé PFE. Avaliação histopatológica realizada em dentes de cães com lesão periapical após retrobturação com MTA e cimento Portland. *Braz Oral Res*. 2004 September;18:164.

Bernabé PFE. Comparative study of MTA and other materials in retrofilling of pulpless dog's teeth. *Braz Dent J*. 2005 Maio-Agosto;16(2):149-55.

Bodrumlu E, Muglali M, Sumer M e Guvenc T. The response of subcutaneous connective tissue to a new endodontic filling material. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2008 Feb;84(2):463-7.

Bortoluzzi EA. Avaliação da reação do tecido subcutâneo de ratos à implantação dos cimentos MTA e Portland brancos acrescidos de radiopacificadores. 175p. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru 2005.

Bramante C, Bortoluzzi E e Broon N. Agregado Trióxido Mineral (MTA) como plug para la obturación de conductos radiculares: descripción de la técnica y caso clínico. *Endodoncia*. 2004;22(3):155-61.

Bramante CM, et al. Presence of arsenic in different types of MTA and white and gray Portland cement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;106(6):909-13.

Broon NJ. Healing of root perforations treated with Mineral Trioxide Aggregated (MTA) and Portland cement. *J Appl Oral Sci.* 2006 Oct;14(5):305-11.

Camilleri J, Montesin FE, Brady K, Sweeney R, Curtis RV e Ford TR. The constitution of mineral trioxide aggregate. *Dent Mater.* 2005 Apr;21(4):297-303.

Camilleri J, Montesin FE, Papaioannou S, McDonald F e Pitt Ford TR. Biocompatibility of two commercial forms of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J.* 2004 Oct;37(10):699-704.

Cintra LT, de Moraes IG, Estrada BP, Gomes-Filho JE, Bramante CM, Garcia RB, et al. Evaluation of the tissue response to MTA and MBPC: Microscopic analysis of implants in alveolar bone of rats. *J Endod.* 2006 Jun;32(6):556-9.

Coneglian PZ, Orosco FA, Bramante CM, Moraes IG, Garcia RB e Bernardineli N. In vitro sealing ability of white and gray mineral trioxide aggregate (MTA) and white Portland cement used as apical plugs. *J Appl Oral Sci.* 2007 Jun;15(3):181-5.

Costa AT, Konrath F, Dedavid B, Weber JB e de Oliveira MG. Marginal adaptation of root-end filling materials: an in vitro study with teeth and replicas. *J Contemp Dent Pract.* 2009;10(2):75-82.

Costa CAS, Hebling J e Souza PPC. Testes de biocompatibilidade dos materiais odontológicos. In: Estrela C, *Metodologia Científica: ciência, ensino e pesquisa*. São Paulo: Artes Médicas 2001. p.231-71.

Cotran RS, Kumar V e Collins T. Patologia estrutural e funcional. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 2000.

Coutinho-Filho T, De-Deus G, Klein L, Manera G, Peixoto C e Gurgel-Filho ED. Radiopacity and histological assessment of Portland cement plus bismuth oxide. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008 Dec;106(6):e69-77.

De-Deus G, Audi C, Murad C, Fidel S e Fidel R. Similar expression of through-and-through fluid movement along orthograde apical plugs of MTA Bio and white Portland cement. *Int Endod J.* 2008 Dec;41(12):1047-53.

De-Deus G, Reis C, Brandao C, Fidel S e Fidel RA. The ability of Portland cement, MTA, and MTA Bio to prevent through-and-through fluid movement in repaired furcal perforations. *J Endod*. 2007 Nov;33(11):1374-7.

Diamanti E. Chemical composition and surface characteristics of gray and new white ProRootMTA. *Int Endod J*. 2003 Dec;36(12):946-7.

Duarte MA, De Oliveira Demarchi AC, Yamashita JC, Kuga MC e De Campos Fraga S. Arsenic release provided by MTA and Portland cement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005 May;99(5):648-50.

Duarte MA, Demarchi AC, Yamashita JC, Kuga MC e Fraga Sde C. pH and calcium ion release of 2 root-end filling materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2003 Mar;95(3):345-7.

Dumsha DC e Holt GM. Biocompatibility of bone cement, ProRoot and Super-EBA in ferret canines. *J Endod*. 2000 Sep;26(9):554.

Economides N, Pantelidou O, Kokkas A e Tziafas D. Short-term periradicular tissue response to mineral trioxide aggregate (MTA) as root-end filling material. *Int Endod J*. 2003 Jan;36(1):44-8.

Eidelman E, Holan G e Fuks AB. Mineral trioxide aggregate vs. formocresol in pulpotomized primary molars: a preliminary report. *Pediatr Dent*. 2001 Jan-Feb;23(1):15-8.

Faraco-Junior IM e Holland R. Histomorphological response of dogs' dental pulp capped with white mineral trioxide aggregate. *Braz Dent J*. 2004;15(2):104-8.

Faraco-Junior IM e Holland R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. *Dent Traumatol*. 2001 Aug;17(4):163-6.

Faraco-Junior IM. Avaliação histomorfológica da resposta da polpa de dentes de cães submetida ao capeamento com sistema adesivo, cimento de hidróxido de cálcio e dois tipos de agregado de trióxido mineral. Faculdade de Odontologia de Araçatuba- Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"; Araçatuba, 1999.

Farsi N, Alamoudi N, Balto K e Mushayt A. Success of mineral trioxide aggregate in pulpotomized primary molars. *J Clin Pediatr Dent*. 2005 Summer;29(4):307-11.

Felippe WT, Felipe MC e Rocha MJ. The effect of mineral trioxide aggregate on the apexification and periapical healing of teeth with incomplete root formation. *Int Endod J*. 2006 Jan;39(1):2-9.

Ferris DM e Baumgartner JC. Perforation repair comparing two types of mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 2004 Jun;30(6):422-4.

Gartner AH e Dorn SO. Advances in endodontic surgery. *Dent Clin North Am*. 1992 Apr;36(2):357-78.

Gomes-Filho JE, Bernabe PF, Nery MJ, Otoboni-Filho JA, Dezan-Junior E, de Moraes Costa MM, et al. Reaction of rat connective tissue to a new calcium hydroxide-based sealer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008 Aug;106(2):e71-6.

Gomes-Filho JE, de Faria MD, Bernabe PF, Nery MJ, Otoboni-Filho JA, Dezan-Junior E, et al. Mineral trioxide aggregate but not light-cure mineral trioxide aggregate stimulated mineralization. *J Endod*. 2008 Jan;34(1):62-5.

Gomes-Filho JE, Watanabe S, Bernabe PF e de Moraes Costa MT. A mineral trioxide aggregate sealer stimulated mineralization. *J Endod*. 2009 Feb;35(2):256-60.

Gorduysus MO, Etikan I e Gokoz A. Histopathological evaluation of the tissue reactions to Endo-Fill root canal sealant and filling material in rats. *J Endod*. 1998 Mar;24(3):194-6.

Guttuso J. Histopathologic study of rat connective tissue responses to endodontic materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1963 Jun;16:713-27.

Haglund R. Effects of root-end filling materials on fibroblasts and macrophages *in vitro*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 2003 Jun;95(6):739-45.

Ham KA, Witherspoon DE, Gutmann JL, Ravindranath S, Gait TC e Opperman LA. Preliminary evaluation of BMP-2 expression and histological characteristics during apexification with calcium hydroxide and mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 2005 Apr;31(4):275-9.

Hardy I, Liewehr FR, Joyce AP, Agee K e Pashley DH. Sealing ability of One-Up Bond and MTA with and without a secondary seal as furcation perforation repair materials. *J Endod*. 2004 Sep;30(9):658-61.

Hayashi M, Shimizu A e Ebisu S. MTA for obturation of mandibular central incisors with open apices: case report. *J Endod*. 2004 Feb;30(2):120-2.

Holland R et al. Agregado de Trióxido Mineral y cemento Portland en la obturación de conductos radiculares de perro. *Endodoncia*. 2001;19(4):275-80.

Holland R et al. Resposta tecidual à implantação de diferentes marcas de cones de guta-percha. Estudo histológico em ratos. *Rev Fac Odontol Aracatuba*. 1975 Jan;4(1):81-90.

Holland R, de Souza V, Murata SS, Nery MJ, Bernabé PFE, Otoboni-Filho JA, et al. Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and pulp covering with mineral trioxide aggregate or Portland cement. *Braz Dent J*. 2001;12(2):109-13.

Holland R, de Souza V, Nery MJ, Bernabé PFE, Filho JA, Dezan-Junior E, et al. Calcium salts deposition in rat connective tissue after the implantation of calcium hydroxide-containing sealers. *J Endod*. 2002 Mar;28(3):173-6.

Holland R, de Souza V, Nery MJ, Faraco-Junior IM, Bernabé PFE, Otoboni-Filho JA, et al. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tube filled with mineral trioxide aggregate, Portland cement or calcium hydroxide. *Braz Dent J*. 2001;12(1):3-8.

Holland R, de Souza V, Nery MJ, Otoboni-Filho JA, Bernabé PFE and Dezan-Junior E. Reaction of dogs' teeth to root canal filling with mineral trioxide aggregate or a glass ionomer sealer. *J Endod*. 1999a Nov;25(11):728-30.

Holland R, de Souza V, Nery MJ, Otoboni-Filho JA, Bernabé PFE and Dezan-Junior E. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. *J Endod*. 1999b Mar;25(3):161-6.

Holland R, Otoboni-Filho JA, de Souza V, Nery MJ, Bernabé PFE and Dezan-Junior E. Mineral trioxide aggregate repair of lateral root perforations. *J Endod*. 2001 Apr;27(4):281-4.

Holland R, Souza V, Nery MJ, Faraco-Junior IM, Bernabé PFE, Otoboni-Filho JA, et al. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with a white mineral trioxide aggregate. *Braz Dent J*. 2002;13(1):23-6.

Holland R. Agregado de Trióxido Mineral (MTA): composição, mecanismo de ação, comportamento biológico e emprego clínico. *Ciênc Odontol*. 2002;5(5):7-21.

Hong CU, et al. Healing of furcal lesions repaired by amalgam or mineral trioxide aggregate. J Endod. 1994 April;20(4):197.

Hsien HC, Cheng YA, Lee YL, Lan WH e Lin CP. Repair of perforating internal resorption with mineral trioxide aggregate: a case report. J Endod. 2003 Aug;29(8):538-9.

Hunter HA. The effect of gutta-percha, silver points and Rickert's root sealer on bone healing. J Canad Dent Ass. 1957 Jun;23(6):385-8.

Ingle DJ e Griffith IO. The rat in laboratory investigation. Philadelphia, PA, USA: Lippincot Co. 1949.

International Standard Organization. Dentistry- Water based cements- Part I: Powder/ liquid acid base cements. Switzerland: ISSO 9917-1. 2003: 1-22.

Junn DJ et al. Quantitative assessment of dentin bridge formation following pulp capping with mineral trioxide aggregate (MTA). J Endod. 1998 Apr;24(4):278.

Karabucak B, Li D, Lim J e Iqbal M. Vital pulp therapy with mineral trioxide aggregate. Dent Traumatol. 2005 Aug;21(4):240-3.

Keiser K, Johnson CC e Tipton DA. Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. J Endod. 2000 May;26(5):288-91.

Kettering JD e Torabinejad M. Investigation of mutagenicity of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. J Endod. 1995 Nov;21(11):537-42.

Koh ET, McDonald F, Pitt Ford TR e Torabinejad M. Cellular response to Mineral Trioxide Aggregate. J Endod. 1998 Aug;24(8):543-7.

Koh ET, Torabinejad M, Pitt Ford TR, Brady K e McDonald F. Mineral trioxide aggregate stimulates a biological response in human osteoblasts. J Biomed Mater Res. 1997 Dec 5;37(3):432-9.

Kolokuris I, Beltes P, Economides N e Vlemmas I. Experimental study of the biocompatibility of a new glass-ionomer root canal sealer (Ketac-Endo). J Endod. 1996 Aug;22(8):395-8.

Komabayashi T e Spangberg LS. Particle size and shape analysis of MTA finer fractions using Portland cement. J Endod. 2008 Jun;34(6):709-11.

Koulaouzidou EA, Economides N, Beltes P, Geromichalos G e Papazisis K. In vitro evaluation of the cytotoxicity of ProRoot MTA and MTA Angelus. J Oral Sci. 2008 Dec;50(4):397-402.

Koulaouzidou EA, Papazisis KT, Economides NA, Beltes P e Kortsaris AH. Antiproliferative effect of mineral trioxide aggregate, zinc oxide-eugenol cement, and glass-ionomer cement against three fibroblastic cell lines. J Endod. 2005 Jan;31(1):44-6.

Kowalski Rea. Estudo comparativo da resposta histológica ao implante submucoso em ratos de cimento agregado trióxido mineral (MTA) de duas marcas comerciais. Odontol Clin Cient. 2004 Jan-Abr;3(1):17-24.

Larini L, Salgado PET e Lepera JS. Metais. In: Larini L, *Toxicologia*. São Paulo: Manole 1997: p.121- 7.

Lee SJ, Monsef M e Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. J Endod. 1993 Nov;19(11):541-4.

Leonardo MR, Utrilla LS, Rothier A, Leonardo RT e Consolaro A. Comparison of subcutaneous connective tissue responses among three different formulations of gutta-percha used in thermatic techniques. Int Endod J. 1990 Jul;23(4):211-7.

Lessa FCR et al. Efeito citotóxico do cimento MTA branco e de um cimento experimental sobre células odontoblastóides em cultura. Braz Oral Res. 2006 Set.(20):179.

Loxley EC, Liewehr FR, Buxton TB e McPherson JC, 3rd. The effect of various intracanal oxidizing agents on the push-out strength of various perforation repair materials. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2003 Apr;95(4):490-4.

Luczaj-Cepowicz E, Pawinska M, Marczuk-Kolada G, Leszczynska K e Waszkiel D. Antibacterial activity of two Mineral Trioxide Aggregate materials in vitro evaluation. Ann Acad Med Stetin. 2008;54(1):147-50; discussion 50-1.

Luiz M. Avaliação do reparo apical e periapical em dentes de cães com lesão periapical após obturações retrógradas com diferentes materiais retrobturadores. Faculdade de Odontologia de Araraquara- Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Araraquara, 2002.

Magro-Kato MM. Avaliação microscópica da implantação, em subcutâneo de ratos, do agregado trióxido mineral- CPM e do clínquer do cimento Portland branco puro e acrescido de 2 e 5% de sulfato de cálcio e determinação de seus tempos de presa. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Odontologia de Bauru-Universidade de São Paulo. Bauru, 2007.

Main C, Mirzayan N, Shabahang S e Torabinejad M. Repair of root perforations using mineral trioxide aggregate: a long-term study. J Endod. 2004 Feb;30(2):80-3.

Marcotte LR, Dowson J e Rowe NH. Apical healing with retrofilling materials amalgam and gutta-percha. J Endod. 1975 Feb;1(2):63-5.

Maroto M, Barberia E, Planells P e Garcia Godoy F. Dentin bridge formation after mineral trioxide aggregate (MTA) pulpotomies in primary teeth. Am J Dent. 2005 Jun;18(3):151-4.

Maroto M, Barberia E, Planells P e Vera V. Treatment of a non-vital immature incisor with mineral trioxide aggregate (MTA). Dent Traumatol. 2003 Jun;19(3):165-9.

Maroto M, Barberia E, Vera V e Garcia-Godoy F. Dentin bridge formation after white mineral trioxide aggregate (white MTA) pulpotomies in primary molars. Am J Dent. 2006 Apr;19(2):75-9.

Menezes R, Bramante CM, Letra A, Carvalho VG e Garcia RB. Histologic evaluation of pulpotomies in dog using two types of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements as wound dressings. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004 Sep;98(3):376-9.

Min KS, Kim HI, Park HJ, Pi SH, Hong CU e Kim EC. Human pulp cells response to Portland cement in vitro. J Endod. 2007 Feb;33(2):163-6.

Miranda R. Citotoxicidade de alguns cimentos reparadores de perfuração radicular sobre células L929. Duque de Caxias: Universidade do Grande Rio; 2007.

Mitchell PJ, Pitt Ford TR, Torabinejad M e McDonald F. Osteoblast biocompatibility of mineral trioxide aggregate. Biomaterials. 1999 Jan;20(2):167-73.

Moraes IG. Propriedades físicas de cimentos epóxicos experimentais para obturação de canais radiculares, baseados no AH26. 149 p. Tese (Doutorado)- Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 1984.

Moraes SH, Aragão EM e Heck AR. Reação do tecido conjuntivo subcutâneo de rato ao implante de cimento Portland. J Bras Endod. 2001 out/dez;2(7):326-9.

Morais CAH, Bernardinelli N, Garcia RB, Duarte MAH e Guerisoli DMZ. Evaluation of tissue response to MTA and Portland cement with iodoform. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006;102:417-21.

Morandi R. Avaliação histomorfológica realizada em dentes de cães com lesão periapical, após apicectomia e obturação retrógrada convencional com cimentos à base de óxido de zinco e eugenol e o agregado de trióxido mineral. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista; 1999.

Moretton TR, Brown CE, Jr., Legan JJ e Kafrawy AH. Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of mineral trioxide aggregate and ethoxybenzoic acid cement. J Biomed Mater Res. 2000 Dec 5;52(3):528-33.

Motta AG et al. Reação do tecido conjuntivo subcutâneo de rato ao MTA e ao Hidróxido de Cálcio. Rev Bras Odontol. 2003 Jul-Ago;60(4):274-6.

Myers K et al. The effects of mineral trioxide aggregate on the dog pulp. J Endod. 1996 Apr;22(4):198.

Nakata T, Bae K e Baumgartner J. Perforation repair comparing mineral trioxide aggregate and amalgam using an anaerobic bacterial leakage model. J Endod. 1998;24(3):184-6.

Noetzel J et al. Tissue responses to an experimental calcium phosphate cement and mineral trioxide aggregate as materials for furcation perforation repair: a histological study in dogs. Clin Oral Investig. 2006 Mar;10(1):77-83.

Olsson B, Sliwowski A e Langeland K. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. J Endod. 1981 Aug;7(8):355-67.

Orosco F. Análise da capacidade seladora e da adaptação marginal de tampões apicais confeccionados com diferentes materiais, sob a influência de três técnicas de obturação de canais radiculares. 140p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2007.

Ortiz-Oropeza RM. Avaliação microscópica da resposta do tecido subcutâneo de ratos à implantação do Endo-CPM-Sealer e do Clínquer do cimento Portland cinza puro e acrescido com sulfato de cálcio a 2% e 5%. 219p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2007.

Osório RM. Citotoxicity of endodontic materials. J Endod. 1998 Feb;24(2):91-6.

Ozbas H, Yaltirik M, Bilgic B e Issever H. Reactions of connective tissue to compomers, composite and amalgam root-end filling materials. Int Endod J. 2003 Apr;36(4):281-7.

Parirokh M, Asgary S, Eghbal MJ, Stowe S, Eslami B, Eskandarizade A, et al. A comparative study of white and grey mineral trioxide aggregate as pulp capping agents in dog's teeth. Dent Traumatol. 2005 Jun;21(3):150-4.

Pavan N. Análise da infiltração marginal em obturações retrógradas realizadas com polímero de mamona, epóxico experimental, cimento de óxido de zinco e eugenol reforçado (Super-EBA) e ionômero de vidro (FUJI II LC). Dissertação (Mestrado). Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 1999.

Perez AL, Spears R, Gutmann JL e Opperman LA. Osteoblasts and MG-63 osteosarcoma cells behave differently when in contact with ProRoot MTA and White MTA. Int Endod J. 2003 Aug;36(8):564-70.

Phillips JM. Rat connective tissue response to hollow polyethylene tube implants. J Can Dent Assoc (Tor). 1967 Feb;33(2):59-64.

Pitt Ford TR. Using mineral trioxide aggregate as a pulp-capping material. J Am Dent Assoc. 1996 Oct;127(10):1491-4.

Pitt-Ford T, Torabinejad M, McKendry D, Hong C e Kariyawasam S. Use of mineral trioxide aggregate for repair of furcal perforations. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1995 Jun;79(6):756-63.

Poshadley AG e Harrison JD. Rat connective tissue response to pontic materials. J Prosthet Dent. 1966;16:110-8.

Rathbun MA, Craig RG, Hanks CT e Filisko FE. Cytotoxicity of a BIS-GMA dental composite before and after leaching in organic solvents. J Biomed Mater Res. 1991 Apr;25(4):443-57.

Regan JD, Gutmann JL e Witherspoon DE. Comparison of Diaket and MTA when used as root-end filling materials to support regeneration of the periradicular tissues. Int Endod J. 2002 Oct;35(10):840-7.

Rezende TM, Vargas DL, Cardoso FP, Sobrinho AP e Vieira LQ. Effect of mineral trioxide aggregate on cytokine production by peritoneal macrophages. *Int Endod J*. 2005 Dec;38(12):896-903.

Ribeiro DA, Matsumoto MA, Duarte MA, Marques ME e Salvadori DM. Ex vivo biocompatibility tests of regular and white forms of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J*. 2006 Jan;39(1):26-30.

Safavi KE, Pascon EA e Langeland K. Evaluation of tissue reaction to endodontic materials. *J Endod*. 1983 Oct;9(10):421-9.

Sari S e Sonmez D. Internal resorption treated with mineral trioxide aggregate in a primary molar tooth: 18-month follow-up. *J Endod*. 2006 Jan;32(1):69-71.

Scarpato RK, Grecca FS e Fachin EV. Analysis of tissue reactions to methacrylate resin-based, epoxy resin-based, and zinc oxide-eugenol endodontic sealers. *J Endod*. 2009 Feb;35(2):229-32.

Schwartz RS, Mauger M, Clement DJ e Walker WA, 3rd. Mineral trioxide aggregate: a new material for endodontics. *J Am Dent Assoc*. 1999 Jul;130(7):967-75.

Shabahang S, Torabinejad M, Boyne PP, Abedi H e McMillan P. A comparative study of root-end induction using osteogenic protein-1, calcium hydroxide, and mineral trioxide aggregate in dogs. *J Endod*. 1999 Jan;25(1):1-5.

Shahi S, Rahimi S, Lotfi M, Yavari H e Gaderian A. A comparative study of the biocompatibility of three root-end filling materials in rat connective tissue. *J Endod*. 2006 Aug;32(8):776-80.

Shin S et al. Biocompatibility and mitogenic effect of several root-end filling materials in osteoblast and odontoblast cultures. *J Endod*. 2003 Apr;29(4):306.

Silva-Neto U. Capacidade seladora e adaptação marginal proporcionadas por alguns materiais quando utilizados em perfurações na região de furca de molares humanos. 121p. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2002.

Simon S, Rilliard F, Berdal A e Machtou P. The use of mineral trioxide aggregate in one-visit apexification treatment: a prospective study. *Int Endod J*. 2007 Mar;40(3):186-97.

Siqueira D, Taveira A, Baldi J, Torres S e Moraes I. Avaliação da infiltração bacteriana de cimentos utilizados na retrobturação. [Suplemento] Braz Oral Res. 2004;18:162.

Sluyk SR, Moon PC e Hartwell GR. Evaluation of setting properties and retention characteristics of mineral trioxide aggregate when used as a furcation perforation repair material. J Endod. 1998 Nov;24(11):768-71.

Soares I. Resposta pulpar ao MTA - Agregado de Trióxido Mineral - comparada ao hidróxido de cálcico, em pulpotomias. Histológico em cães. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 1996.

Sousa CJ, Loyola AM, Versiani MA, Biffi JC, Oliveira RP e Pascon EA. A comparative histological evaluation of the biocompatibility of materials used in apical surgery. Int Endod J. 2004 Nov;37(11):738-48.

Spangberg L e Langeland K. Biologic effects of dental materials. 1. Toxicity of root canal filling materials on HeLa cells in vitro. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1973 Mar;35(3):402-14.

Stanford JW. Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. Int Endod J. 1980 June;30(2):140-88.

Sumer M, Muglali M, Bodrumlu E e Guvenc T. Reactions of connective tissue to amalgam, intermediate restorative material, mineral trioxide aggregate, and mineral trioxide aggregate mixed with chlorhexidine. J Endod. 2006 Nov;32(11):1094-6.

Sun ZL, Wataha J e Hanks C. Effects of metal ions on osteoblast-like cell metabolism and differentiation. J Biomed Mater Res 1997;37:29-34.

Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, Hotta J, Watanabe E e Ito IY. Antimicrobial activity of endodontic sealers based on calcium hydroxide and MTA. Acta Odontol Latinoam. 2008;21(2):147-51.

Tanomaru-Filho M, da Silva GF, Duarte MA, Goncalves M e Tanomaru JM. Radiopacity evaluation of root-end filling materials by digitization of images. J Appl Oral Sci. 2008 Nov-Dec;16(6):376-9.

Tanomaru-Filho M, Tanomaru JM, Barros DB, Watanabe E e Ito IY. In vitro antimicrobial activity of endodontic sealers, MTA-based cements and Portland cement. J Oral Sci. 2007 Mar;49(1):41-5.

Tanomaru-Filho M. Capacidade seladora de diferentes cimentos endodônticos em obturações retrógradas. *Rev Fac Odontol Lins.* 1998;2:58-61.

Thomson TS et al. Osteocalcin expression by cementoblasts attached to mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2001 Mar;27(3):Abstract n.42.

Thomson TS, Berry JE, Somerman MJ e Kirkwood KL. Cementoblasts maintain expression of osteocalcin in the presence of mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2003 Jun;29(6):407-12.

Torabinejad M e Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 1999 Mar;25(3):197-205.

Torabinejad M e White D, inventors; Tooth filling material and use. US. 1995.

Torabinejad M, Ford TR, Abedi HR, Kariyawasam SP e Tang HM. Tissue reaction to implanted root-end filling materials in the tibia and mandible of guinea pigs. *J Endod.* 1998 Jul;24(7):468-71.

Torabinejad M, Higa RK, McKendry DJ e Pitt Ford TR. Dye leakage of four root end filling materials: effects of blood contamination. *J Endod.* 1994 Apr;20(4):159-63.

Torabinejad M, Hong CU, Lee SJ, Monsef M e Pitt Ford TR. Investigation of mineral trioxide aggregate for root-end filling in dogs. *J Endod.* 1995 Dec;21(12):603-8.

Torabinejad M, Hong CU, McDonald F e Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod.* 1995 Jul;21(7):349-53.

Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR e Kaiyawasam SP. Tissue reaction to implanted super-EBA and mineral trioxide aggregate in the mandible of guinea pigs: a preliminary report. *J Endod.* 1995 Nov;21(11):569-71.

Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR e Kettering JD. Cytotoxicity of four root end filling materials. *J Endod.* 1995 Oct;21(10):489-92.

Torabinejad M, Pitt Ford TR, McKendry DJ, Abedi HR, Miller DA e Kariyawasam SP. Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root-end filling in monkeys. *J Endod.* 1997 Apr;23(4):225-8.

Torabinejad M, Rastegar AF, Kettering JD e Pitt Ford TR. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *J Endod.* 1995 Mar;21(3):109-12.

Torabinejad M, Smith PW, Kettering JD e Pitt Ford TR. Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. *J Endod.* 1995 Jun;21(6):295-9.

Torabinejad M, Watson TF e Pitt Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *J Endod.* 1993 Dec;19(12):591-5.

Torneck CD. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. I. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1966 Mar;21(3):379-87.

Tziafas D, Pantelidou O, Alvanou A, Belibasakis G e Papadimitriou S. The dentinogenic effect of mineral trioxide aggregate (MTA) in short-term capping experiments. *Int Endod J.* 2002 Mar;35(3):245-54.

Valey J, Simonian P e Conrad E. Carcinogenicity and metallic implants. *Am J Orthod* 1995;24:24.

Vasconcelos B. Avaliação de algumas propriedades físico-químicas de cimento retro-obturadores à base de agregado trióxido mineral e de um cimento epóxico experimental. 162p. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2006.

Vivan RR. Avaliação de algumas propriedades físico-químicas de alguns materiais retrobturadores. 164p. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2009.

Vosoughhosseini S, Lotfi M, Shahi S, Baloo H, Mesgariabbasi M, Saghiri MA, et al. Influence of white versus gray mineral trioxide aggregate on inflammatory cells. *J Endod.* 2008 Jun;34(6):715-7.

Weldon JK, Jr., Pashley DH, Loushine RJ, Weller RN e Kimbrough WF. Sealing ability of mineral trioxide aggregate and super-EBA when used as furcation repair materials: a longitudinal study. *J Endod.* 2002 Jun;28(6):467-70.

Willershausen B. Biocompatibility of orthograde and retrograde root canal filling materials. *J Endod.* 2000 Sep;26(9):545.

Willians D. Definitions in biomaterials. Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials; 1986; England: Elsevier; 1986.

Wolfson EM e Seltzer S. Reaction of rat connective tissue to some gutta-percha formulations. J Endod. 1975 Dec;1(12):395-402.

Wucherpfennig A e Green D. Mineral trioxide vs. Portland cement: two biocompatible filling materials. J Endod. 1999 Apr;25(4):308.

Yaltrik M, Ozbas H, Bilgic B e Issever H. Reactions of Connective Tissue to Mineral Trioxide Aggregate and Amalgam. J Endod. 2004;30(2).

Yildirim G e Dalci K. Treatment of lateral root perforation with mineral trioxide aggregate: a case report. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006 Nov;102(5):e55-8.

Yildirim T, Gencoglu N, Firat I, Perk C e Guzel O. Histologic study of furcation perforations treated with MTA or Super EBA in dogs' teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005 Jul;100(1):120-4.

Zhu Q, Haglund R, Safavi KE e Spangberg LS. Adhesion of human osteoblasts on root-end filling materials. J Endod. 2000 Jul;26(7):404-6.

Anexo

Anexo **Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru**

Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

Of.CEEPA-FOB/USP Nº 011/2008

Proc. Nº 025/2007

Bauru, 13 de junho de 2008.

Senhor Professor,

Aprovamos "*ad referendum*" desta Comissão, a solicitação de Vossa Senhoria para a alteração do título do projeto de pesquisa "Avaliação da reação tecidual frente aos cimentos MTA Ângelus® cinza, MTA Bio e epóxico experimental. Estudo microscópico em tecido subcutâneo de ratos", de autoria de Natasha Siqueira Fidelis sob sua orientação, para "**Avaliação da reação tecidual frente aos cimentos MTA Angelus® branco, MTA Bio e Sealepox RP. Estudo microscópico em tecido subcutâneo de ratos**", considerando que não há impedimentos éticos.

Atenciosamente,

Profª Drª Marília Afonso Rabelo Buzalaf

Presidente da Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

Prof. Dr. Roberto Brandão Garcia

Docente do Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários