Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru

**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**

┌ ┌ ┌ ┌ ┌ ┌ ┌ ┌ ┌ ┌ ┌ ┌ ┌ ┌ ┌

Márcia Maria Magro-Kato

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

Bauru
2007

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

MÁRCIA MARIA MAGRO-KATO

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

Orientador: Prof. Dr. Clóvis Monteiro Bramante

Co-orientador: Prof. Dr. Gerson Francisco de Assis

Bauru

2007

Magro-kato, Márcia Maria
M276a 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/ Márcia Maria Magro Kato -- Bauru, 2007.
241p. : il. ; 30 cm.

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

Orientador: Prof. Dr. Clóvis Monteiro Bramante
Co-orientador: Prof. Dr Gerson Francisco de Assis

Autorizo, exclusivamente pra fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, por processo fotocopiadores e/ou meios eletrônicos.

Assinatura do autor:

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP

Protocolo n.º: 23/2005
Data: 17/11/2007

Dados Curriculares

Márcia Maria Magro- Kato

26 de Agosto de 1977

Dois Córregos- SP

Nascimento

Filiação

Antonio José Magro

Alice Cecília Mangili Magro

1997-2001

*Graduação na Universidade Estadual
de Londrina-PR*

2002

*Curso de aperfeiçoamento em Cirurgia Bucal
pela Universidade Estadual de Campinas,
Faculdade de Odontologia de Piracicaba*

2003-2004

*Curso de Especialização em Endodontia pela
Faculdade de Odontologia de Bauru,
Universidade de São Paulo*

2005-2007

*Curso de pós-graduação, mestrado,
área de Endodontia pela
Faculdade de Odontologia de Bauru
Universidade de São Paulo*

Associação

APCD

CRO-SP

DEDICATÓRIA E AGRADECIMENTOS

DEUS

*Meu agradecimento especial a Deus, pela
oportunidade de conviver com pessoas tão
inteligentes e tão nobres naquilo que fazem.
Obrigada pela vida e saúde, por essa conquista,
pela minha família e toda força nos momentos
difíceis. Agradeço a alegria trazida por pequenos
milagres, que tenho consciência que acontecem no
meu dia - a - dia, e também, obrigada pelos
grandes milagres, que com certeza acontecem, mas
que não tenho a sabedoria para reconhecê-los ou
entendê-los...*

Obrigada, nosso Deus!

*“Do meu telescópio, eu via Deus caminhar! A
maravilhosa disposição e harmonia do universo só pode
ter tido origem segundo o plano de um Ser que tudo sabe
e tudo pode. Isto fica sendo a minha última e mais
elevada descoberta.”*

(Isaac Newton)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu querido pai Zezo Magro, uma pessoa de coração enorme, amada demais, companheira, batalhadora em todas as situações que inclusive, nunca vi fraquejar diante de situações difíceis... dedico a você pai, porque sem o seu apoio, em todos os sentidos, eu nunca teria chegado até aqui... obrigada por tudo que fez, pela educação, força de vontade, humildade e dedicação que nos ensinou e plantou em nossos corações desde pequenas, como base de tudo, e agora colhemos juntos esse fruto bom...

Dedico a minha querida mãe Alice Cecília Mangili Magro por estar sempre presente e por amparar, agarrar, ensinar, corrigir, amar e suportar todas as situações para que nossa família crescesse no ambiente do bem, sempre o suporte e trabalho de casa, não mediu esforços para todos tivessem o melhor almoço, o melhor conselho, o melhor momento de descanso, a melhor companhia para conversarmos, a melhor ajuda ...obrigada mãe por ser tão dedicada...espero poder fazer pelos meus filhos um pouquinho do que senhora fez por nós...

*Dedico a minha querida irmã **Adriana Cecília Magro Pierin** que sempre me incentivou, torceu, apoiou, me ensinou muito da vida e da Odontologia com sua enorme capacidade e determinação. Muito obrigada por ter me ajudado tanto e por querer sempre me ajudar... obrigada por fazer parte da minha vida... minha alegria é ter você como companheira pra tudo...*

*Agradeço ao meu cunhado **Antonio Cláudio Pierin** e aos meus amados sobrinhos **João Pedro** que com apenas 7 anos falou: tia você não vai terminar nunca esse trabalho? E ao **José Felipe** que com um ano e três meses vinha pertinho da tela do computador e falava: Ohhh! e num momento de distração, apertava todas as teclas...*

*Dedico ainda, ao meu querido esposo **Helder Hideaki Kato** que com toda sua paciência soube me ajudar muito, me apoiar, me entender, muitas vezes falei da minha angústia de querer terminar esse trabalho e sempre me apoiou. Obrigada por tudo e pelo amor que tem por mim, pela dedicação, pelo carinho, pela alegria de voltar pra casa e te encontrar, obrigada por me proporcionar um casamento maravilhoso...Me orgulho muito de você, me sinto em paz e muito feliz... te amo demais ...*

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu orientador

Ao Prof.Dr. Clóvis Monteiro Bramante por tudo que fez por mim. Confesso que quando soube que o senhor seria meu orientador fiquei amedrontada, pois sabia da sua capacidade profissional, dedicação, competência e toda essa aura que passa aos alunos. Sabia que se iniciava aí outro grande desafio. Hoje, depois de muitos e muitos meses, tenho consciência que o senhor foi um excelente orientador; sempre me tratou com muito respeito, apesar da grande diferença de conhecimento e experiência que existe entre nós. Sobre as fases do trabalho, sempre me questionou e explicou tudo que eu gostaria de saber; e sobre as fases da minha vida, se preocupou comigo. Mesmo estando atrasada para a conclusão desta dissertação, se mostrou muito paciente e compreensivo, e nunca me dirigiu qualquer palavra áspera. Agradeço de coração todo o ensinamento passado, a oportunidade da convivência, a disposição e o bom humor para correção de cada etapa. Posso falar que o senhor é professor com todas as letras que essa palavra pode exprimir. Muito obrigada, que Deus retribua toda essa dedicação de alguma forma em sua vida. Quero lembrá-lo que muita coisa ficará porque “o professor influi para a eternidade e nunca se pode dizer até onde vai sua influência” (Henry B. Adams).

AGRADECIMENTO

Ao prof. Dr. Gerson Francisco de Assis meu grande co-orientador neste trabalho que ensinou que a Histologia é maravilhosa porque mostra em detalhes o que acontece num todo. Ajudou muito, não só com as lâminas e tudo referente a histologia, mas nos momentos que precisei, me deixando calma e mostrando o rumo a seguir. Quero agradecer tudo que fez por mim e por esse estudo; quero agradecer o seu empenho e a dedicação na profissão, agradeço o tempo dispensado, a paciência e tantas horas de almoço que viraram horas de trabalho. Sempre com muito a fazer, me deu oportunidades de mostrar as etapas concluídas, o progresso realizado. Peço a Deus que retribua tudo isso ao senhor e que continue sempre tão humilde, competente e amigo de todos que o cercam.

Muito obrigada, de coração!

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos queridos professores da disciplina de Endodontia pela grande valorização da especialidade, do ensino e do aluno... ao Prof. Dr. Ivaldo Gomes de Moraes pela sua dedicação, calma, pela amizade e conhecimento; ao Prof. Dr. Norberti Bernardinelli meu orientador de monografia do curso de especialização, pela grande experiência clínica, ensinamentos, pelo cuidado com o paciente e amizade; ao Prof. Dr. Roberto Brandão Garcia pelo aprofundamento da biologia aplicada à endodontia, pela dedicação, afinco e perfeccionismo e por tratar com tanto respeito cada um; e ao Prof Dr Alceu Berbert sempre com grande conhecimento a transmitir, aberto aos alunos e de bem com vida...

*Obrigada pelo exemplo, pelos ensinamentos, e pela oportunidade de conviver com pessoas tão expressivas e de sucesso naquilo que fazem...
Muito obrigada...*

AGRADECIMENTOS

Obrigada aos pais do meu marido, Jorge e Cleide por terem me apoiado nesse trabalho e por terem compartilhado comigo o filho precioso... e às minhas cunhadas Melissa Thieme Kato e Mirella Akemi Kato por tudo o que fazem por mim....

Agradeço as minhas queridas amigas da graduação, mesmo de longe, torceram por mim: Marina Coutinho da Silveira, Michele Muraoka, Sídia Coser, Priscila Camargo, Danielli Spina e Fernanda Akemi Nakagishi

Agradeço de todo coração a enorme e preciosa ajuda de Tânia Mary Cestari...uma pessoa incrível, incansável, que sempre teve um tempo pra mim, para orientar, explicar, fazer e refazer comigo muitas partes desse trabalho. Obrigada por tudo!

Agradeço a Daniele Ceolin pela competência e paciência para me explicar toda a metodologia do processo histológico...que ficou comigo à noite para a inclusão das peças e pelas conversas sobre a vida e o futuro que tivemos...muito obrigada!

Aos professores da disciplina de Histologia prof. Dr. Rumio Taga, Prof. Dr. Gustavo e Prof. Dr. Dagoberto Sottovia; e a todos os estagiários da disciplina, especialmente ao Bruno pelo apoio. A todos os pós-graduandos da disciplina de Histologia especialmente Isabel Meneghetti, Angélica e Pamella e a todos os funcionários, especialmente Teresa e Divina

As queridas professoras da graduação Eiko Nakagawa Itano e Mirian Marubayashi Hidalgo por me iniciarem na pesquisa e confiarem no meu trabalho.

Aos amigos do mestrado, obrigada pela convivência e aprendizado...levo de cada um muitas lembranças e torço muito por cada um de vocês, porque sei da dificuldade, de cada um, para terminar esse curso.

Sucesso pra vocês!

Bruno Carvalho de Vasconcelos, Patrícia Zanatta Aranha Coneglian, Carla Renata Sipert, Fernando Accorsi Orosco, Ronan Jacques Rezende Delgado, Clarice Fernandes Eloy da Costa, Roberta Brandão Garcia, Ramiro Marcelo Ortiz Oropeza.

Todas as pessoas podem ser grandes porque todas podem servir. Não é preciso ter um diploma universitário para servir. Não é preciso fazer concordar o sujeito e o verbo para servir. Basta um coração cheio de graça. Uma alma gerada pelo amor.

(Martin Luther King)

Agradeço a todos os colegas da pós-graduação, seja do mestrado ou doutorado, pela ajuda sempre que precisei especialmente: Janine Araki, Marcela Claudino, Dafna Gallar, Agnes, Valéria, Rachelle Reis, Moacir Tadeu, Fausto Victorino, Eduardo Bortoluzzi, Adriana Lustosa, Augusto Bodanezzi, Jácio Baldi, Ricardo Bernardes, Fernanda Gomes de Moraes, Paola, Fernando e Márcia Freitas.

Ao Prof. Dr. Carlos Ferreira pelo carinho e preocupação

Ao Prof. Dr. José Roberto Pereira Lauris pela ajuda na análise estatística dos dados.

A todos os professores do curso de Pós-graduação durante o mestrado.

Ao Prof. Dr. Paulo Afonso Silveira Francischone pelos ensinamentos sobre tempo de presa e ao departamento de Dentística, endodontia e Materiais Dentários pela disposição do laboratório e de seus equipamentos.

Aos funcionários da Pós - graduação

À disciplina de Bioquímica pela utilização do grau e pistilo de porcelana, na pessoa do Ovídio

Aos funcionários da Biblioteca por todo apoio para a realização deste trabalho

Aos funcionários da disciplina de endodontia: Sueli, D.Neide, Edimauro, Patrícia e Cleide sempre prontos a me atenderem, obrigada pela grande ajuda e obrigada pelo belíssimo trabalho que desempenham na endodontia e também aos funcionários do departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários: Lígia, Néilson, Alcides, Maria e Mauro.

Aos funcionários do Biotério que me receberam abertamente, sempre prontos a ajudar e ensinar os cuidados com os animais

Ao CNPq pela concessão de bolsa de estudo para a realização do trabalho

À comissão de Pós- graduação na pessoa da Profa. Dra. Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado

A Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, na pessoa do diretor, Prof. Dr.Luis Fernando Pegoraro.

E a todos, que de uma forma ou outra, contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho

A series of overlapping, semi-transparent geometric shapes (triangles and polygons) in shades of orange, peach, and light green, creating a modern, abstract design at the bottom of the page.

RESUMO

RESUMO

O Agregado Trióxido Mineral (MTA) por apresentar boas propriedades físico-químicas e biológicas é indicado, entre outros, como material retrobturador em cirurgias parodontodônticas. O objetivo deste trabalho foi avaliar, microscopicamente, a resposta do tecido subcutâneo de ratos frente à implantação de tubos de polietileno preenchidos por clínquer do cimento Portland branco puro, clínquer do cimento Portland acrescido de 2 e 5 % de Sulfato de Cálcio e o CPM um agregado trióxido mineral e analisar possíveis alterações teciduais provocadas. Também foi avaliado o tempo de presa para os quatros materiais. Utilizou-se 24 ratos e cada animal recebeu quatro implantes de tubos de polietileno, preenchidos com os materiais recém-espaturados em uma extremidade e na outra, guta-percha (controle). Após 15, 30 e 60 dias os animais foram mortos e os espécimes foram fixados em formalina 10 % e preparados para análise microscópica. Duas regiões foram avaliadas: a cápsula, estrutura imediatamente em contato com os materiais e a subcápsula região subjacente a cápsula. As análises morfológica e morfométrica da cápsula mostraram inflamação crônica com intensidade leve tendendo a discreta e maior organização das fibras, vasos, fibroblastos, e espessamento da cápsula fibrosa com decorrer do tempo, porém sem diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$) entre os materiais, já que induziram respostas teciduais semelhantes. Em relação à avaliação da subcápsula a única diferença estatisticamente significativa ($p<0,05$) entre os materiais ocorreu para o período inicial de 15 dias onde o CPM apresentou o menor valor de células inflamatórias. Quanto ao tempo de presa dos materiais avaliados, o menor tempo de presa inicial ocorreu para o clínquer puro (6 min), seguido pelo clínquer a 2% (9 min) e clínquer a 5% (10 min) e o mais longo foi o CPM (15min). Em relação à presa final o clínquer puro também obteve o menor tempo (21min), seguido pelo clínquer a 2% (25 min), CPM (27 min) e por último o clínquer a 5% (42 min). Considerando as limitações deste trabalho, todos os materiais estudados apresentaram boa biocompatibilidade e o CPM apresentou menor grau de resposta inflamatória na região da subcápsula.

Palavras-chave: Endodontia. Cimento Portland. Agregado Trióxido Mineral.

ABSTRACT

ABSTRACT

Microscopic evaluation of the response of subcutaneous tissues of rats to implantation of Portland cement modified – CPM and clinker of white Portland cement pure or combined with 2 % and 5 % of calcium sulfate and to determine the setting time of this materials

The Mineral Trioxide Aggregate (MTA) has been showing good physicochemical and biological properties and indicated for use in endodontic apical surgery, perforation repair, and apexification treatment. The purpose of this study was to evaluate the subcutaneous connective tissue reactions of CPM and clinker of Portland cement, either pure or combined with calcium sulfate 2 and 5% of the total weight. The setting time of the four cements were also evaluated. Four subcutaneous pockets were created in dorsum of the 24 rats and implanted polyethylene tubes sealed on one side with an material and other side with gutta-percha (control group). The Animals were sacrificed at 15, 30, and 60 days after implantation, the skin containing the tubes collected and fixated in 10% formalin. The tubes were removed and surrounding tissue histologically processed. Two regions were evaluated, the connective-tissue capsule formed around material and the subcapsular tissue opposed the capsule. The morphologic and morphometric analysis of collagen fibres, fibroblasts, vessels and inflammatory tissue showed that in the capsule did not found statistical differences between groups ($p>0,05$), showing low-grade chronic inflammation and increase grade of organization of fibrous connective tissue structures with the time. In the subcapsule differences were only significant ($p<0,05$) in the CPM group at 15 days that presented less inflammatory cells in comparison with other materials. Concerning about the initial setting time the lower time was to clinker pure (6 min), followed by clinker 2% (9 min), clinker 5% (10min) and finally the CPM (15 min). About the final setting time the clinker pure obtained the least time (21 min), followed by clinker 2% (25 min), CPM (27 min) and clinker 5% (42 min). Within the limits of this study, all studied materials showed good biocompatibility and CPM showed low-grade inflammatory response in the subcapsule.

Keywords: Endodontics. Portland Cement. Mineral Trioxide Aggregate

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS	pag.
Figura 1 a - Clínquer do cimento Portland branco comparado ao pistilo.	105
Figura 1 b - Clínquer do cimento Portland branco no grau de porcelana.....	105
Figura 2 - Pó do clínquer do cimento Portland.....	105
Figura 3 - CPM : apresentação comercial.....	105
Figura 4- Pó clínquer do cimento Portland branco puro	107
Figura 5 – Pó clínquer do cimento Portland branco acrescido de 2% de Sulfato de Cálcio.....	107
Figura 6 - Pó clínquer do cimento Portland branco acrescido de 5% de Sulfato de Cálcio.....	107
Figura 7 - Animais experimentais.....	109
Figura 8- Secagem interna dos tubos	113
Figura 9- Espatulação do cimento.....	113
Figura 10 - Preenchimento do tubo com cimento.....	113
Figura 11 - Anasedan e Dopalem.....	115
Figura 12- Anestesia.....	115
Figura 13 - Tricotomia.....	115
Figura 14- Anti-sepsia.....	117
Figura 15 - Incisão.....	117
Figura 16 - Divulsão.....	117
Figura 17 - Trocarte.....	117
Figura 18 - Trocarte no momento da implantação do tubo.....	119
Figura 19 – Esquema da localização dos tubos de polietileno.....	119
Figura 20 - Sutura.....	119
Figura 21 - Identificação do animal.....	119
Figura 22 – Pós-operatório imediato.....	119
Figura 23- Aspecto dos tubos no momento da remoção do tecido subcutâneo.....	123
Figura 24 – Remoção dos tubos previamente ao processamento das peças.....	123
Figura 25 – Peças em banho de Xilol.....	123
Figura 26 – Blocos incluídos	123
Figura 27 – Esquema de casualização dos campos microscópicos.....	127
Figura 28 – Graticulo de integração Zeiss.....	129
Figura 29 – Critérios morfológicos utilizados para a contagem morfométrica.....	131
Figura 30 – Anel metálico utilizado para determinação do tempo de presa.....	133
Figura 31 – Agulha de Gillmore 113,5 g.....	133
Figura 32 – Agulha de Gillmore 453,6 g	133
Figura 33 A – Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Clínquer puro, 15 dias de implantação na cápsula.....	143
Figura 33 B - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Clínquer puro, 15 dias de implantação na subcápsula.....	143
Figura 34 A - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Clínquer a 2 % de Sulfato de Cálcio, 15 dias de implantação na cápsula.....	145
Figura 34 B - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Clínquer a 2 % de Sulfato de Cálcio, 15 dias de implantação na subcápsula.....	145
Figura 35 A - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Clínquer a 5 % de Sulfato de Cálcio, 15 dias de implantação na cápsula.....	147

Figura 35 B - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Clínquer a 5 % de Sulfato de Cálcio, 15 dias de implantação na subcápsula	147
Figura 36 A - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo CPM, 15 dias de implantação na cápsula	149
Figura 36 B - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo CPM, 15 dias de implantação na subcápsula	149
Figura 37 A - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Controle (guta-percha), 15 dias de implantação na cápsula.....	151
Figura 37 B - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Controle (guta-percha), 15 dias de implantação na subcápsula.....	151
Figura 38 A - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Clínquer puro, 30 dias de implantação na cápsula.....	153
Figura 38 B - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Clínquer puro, 30 dias de implantação na subcápsula.....	153
Figura 39 A - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Clínquer a 2% de Sulfato de Cálcio, 30 dias de implantação na cápsula.....	155
Figura 39 B - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Clínquer a 2% de Sulfato de Cálcio, 30 dias de implantação a subcápsula.....	155
Figura 40 A - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Clínquer a 5% de Sulfato de Cálcio, 30 dias de implantação na cápsula.....	157
Figura 40 B - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Clínquer a 5% de Sulfato de Cálcio, 30 dias de implantação na subcápsula.....	157
Figura 41 A - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo CPM, 30 dias de implantação na cápsula.....	159
Figura 41 B - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo CPM, 30 dias de implantação na subcápsula.....	159
Figura 42 A - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Controle (guta-percha), 30 dias de implantação na cápsula.....	161
Figura 42 B - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Controle (guta-percha), 30 dias de implantação na subcápsula.....	161
Figura 43 A - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Clínquer puro, 60 dias de implantação na cápsula.....	163
Figura 43 B - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Clínquer puro, 60 dias de implantação na subcápsula.....	163
Figura 44 A - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Clínquer a 2 % de Sulfato de Cálcio, 60 dias de implantação na cápsula.....	165
Figura 44 B - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Clínquer a 2 % de Sulfato de Cálcio, 60 dias de implantação na subcápsula.....	165
Figura 45 A - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Clínquer a 5 % de Sulfato de Cálcio, 60 dias de implantação na cápsula.....	167
Figura 45 B - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Clínquer a 5 % de Sulfato de Cálcio, 60 dias de implantação na subcápsula.....	167
Figura 46 A - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo CPM, 60 dias de implantação na cápsula.....	169
Figura 46 B - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida CPM, 60 dias de implantação na subcápsula.....	169

Figura 47 A - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Controle (guta-percha), 60 dias de implantação na cápsula.....	170
Figura 47 B - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Controle (guta-percha), 60 dias de implantação na subcápsula.....	170
Gráficos	
Gráfico 1 – Densidade de volume (%) de fibras colágenas encontradas no tecido conjuntivo reacional da cápsula.....	176
Gráfico 2 – Densidade de volume (%) de fibroblastos encontrados no tecido conjuntivo reacional da cápsula.....	176
Gráfico 3 – Densidade de volume (%) de vasos sanguíneos encontrados no tecido conjuntivo reacional da cápsula.....	177
Gráfico 4 – Densidade de volume (%) de células inflamatórias encontradas no tecido conjuntivo reacional da cápsula.....	177
Gráfico 5 – Densidade de volume (%) de outras estruturas encontradas no tecido conjuntivo reacional da cápsula.....	178
Gráfico 6 – Densidade de volume (%) de fibras colágenas encontradas no tecido conjuntivo reacional da subcápsula.....	178
Gráfico 7 – Densidade de volume (%) de fibroblastos encontrados no tecido conjuntivo reacional da subcápsula.....	179
Gráfico 8 – Densidade de volume (%) de vasos sanguíneos encontrados no tecido conjuntivo reacional da subcápsula.....	179
Gráfico 9 – Densidade de volume (%) de células inflamatórias encontradas no tecido conjuntivo reacional da subcápsula.....	180
Gráfico 10 – Densidade de volume (%) de outras estruturas encontradas no tecido conjuntivo reacional da subcápsula.....	180
TABELAS	
Tabela I – Média e desvio padrão da densidade de volume (%) de fibras, fibroblastos, células inflamatórias, vasos sanguíneos e de outras componentes encontrados no tecido conjuntivo reacional da CÁPSULA adjacente à superfície do material implantado.....	174
Tabela II – Média e desvio padrão da densidade de volume (%) de fibras, fibroblastos, células inflamatórias, vasos sanguíneos e de outras componentes encontrados no tecido conjuntivo reacional da SUBCÁPSULA subjacente à superfície do material implantado.....	175
Tabela III - Médias dos tempos de presa Inicial e Final – valores expressos em minutos (') e segundos (")	186
QUADRO	
Quadro 1 - Distribuição dos implantes com relação aos materiais e períodos empregados no experimento.....	110

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

FDA	Food and Drug Administration
EUA	Estados Unidos da América
EGEO	Fabricante do CPM
CLQ	Clínquer
CPM	Cimento Portland Modificado
MTA	Mineral Trioxide Aggregate
USP	Universidade de São Paulo
EBA	Ácido Etoxibenzóico
EDTA	Ácido etileno diaminotetracético
FOB	Faculdade de Odontologia de Bauru
UNICAMP	Universidade de Campinas
ADA	American Dental Association
ASTM	Americam Society for Tests and Materials
ISO	International Standards Organization
TM	Trade Mark
IRM	Material Restaurador Intermediário
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
CEEPA	Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
IM	Intramuscular
H.E.	Hematoxilina e Eosina
SFA	Substância Intercelular Amorfa
Mm	Milímetro

Ltda	Limitada
Fig.	Figura
Mg/ kg	Miligrama por kilograma
mL	Mililitro
cm	Centímetro
pH	Potencial hidrogeniônico
° C	Grau Celsius
ppm	Partes por milhão
et al	E colaboradores
min	Minutos
®	Marca Registrada
%	Porcentagem
X	Vezes
µg	Micrograma
+	Mais
<	Menor
g	Gramma
,	Minutos
„	Segundos
=	Igual
p	Nível de significância
H ₂ O	Água
CaSO ₄	Sulfato de cálcio

SUMÁRIO

1 Introdução.....	33
2 Revisão da Literatura.....	41
2.1 Sobre implantação subcutânea.....	41
2.2 Sobre MTA.....	75
2.3 Sobre MTA e suas comparações com o cimento Portland.....	75
2.4 Sobre o CPM.....	89
2.5 Sobre o Sulfato de Cálcio.....	89
3 Proposição.....	97
4 Materiais Métodos.....	101
4.1 Preparo do clínquer.....	101
4.2 Cimentos.....	101
4.2.1 CPM	101
4.2.2 Clínquer do cimento Portland puro.....	102
4.2.3 Clínquer do cimento Portland acrescido de 2% de Sulfato de Cálcio.....	102
4.2.4 Clínquer do cimento Portland acrescido de 5% de Sulfato de Cálcio.....	103
4.3 Animais experimentais.....	109
4.4 Tubos de polietileno.....	109
4.5 Anestesia dos animais.....	110
4.6 Grupos experimentais.....	110
4.7 Implantação dos materiais.....	111
4.8 Morte dos animais e remoção dos tecidos.....	120
4.9 Processamento laboratorial.....	120
4.10 Análise microscópica.....	124
4.10.1 Avaliação histológica.....	124
4.10.2 Avaliação morfométrica.....	124

4.10.2.1 Casualização dos campos microscópicos.....	124
4.10.2.2 Avaliação morfométrica da densidade de volume das fibras, fibroblastos, células inflamatórias, vasos e outras estruturas.....	127
4.11 Análise estatística.....	131
4.12 Determinação do tempo de presa.....	132
5 Resultados.....	137
5.1 Da implantação subcutânea.....	137
5.1.1 - Avaliação microscópica descritiva do tecido reacional adjacente à superfície do material implantado de todos os grupos nos três períodos para a região da cápsula e subcápsula.....	137
5.1.1.1 Período de 15 dias	
5.1.1.1.1.Clínquer do cimento Portland puro.....	137
5.1.1.1.2.Clínquer do cimento Portland acrescido de 2% Sulfato de Cálcio.....	138
5.1.1.1.3 Clínquer do cimento Portland acrescido de 5% Sulfato de Cálcio.....	138
5.1.1.1.4 CPM.....	138
5.1.1.1.5 Controle (guta-percha).....	139
5.1.1.2 Período de 30 dias	
5.1.1.2.1 Clínquer do cimento Portland puro.....	139
5.1.1.2.2 Clínquer do cimento Portland acrescido de 2% Sulfato de Cálcio.....	139
5.1.1.2.3 Clínquer do cimento Portland acrescido de 5% Sulfato de Cálcio.....	140
5.1.1.2.4 CPM.....	140
5.1.1.2.5 Controle (guta-percha).....	140
5.1.1.3 Período de 60 dias	
5.1.1.3.1.Clínquer do cimento Portland puro.....	141
5.1.1.3.2.Clínquer do cimento Portland acrescido de 2% Sulfato de Cálcio.....	141
5.1.1.3.3 Clínquer do cimento Portland acrescido de 5% Sulfato de Cálcio.....	141
5.1.1.3.4 CPM.....	142
5.1.1.3.5 Controle (guta-percha).....	142

5.1.2 Avaliação morfológica da região de tecido reacional para densidade	
de volume de fibras colágenas, fibroblastos, células inflamatórias, vasos	
sanguíneos e outras estruturas presentes na região de cápsula e	
subcápsula.....	173
5.1.2.1 Fibras colágenas da cápsula.....	181
5.1.2.2 Fibroblastos da cápsula.....	181
5.1.2.3 Células inflamatórias da cápsula.....	182
5.1.2.4 Vasos sanguíneos da cápsula.....	182
5.1.2.5 Outras estruturas da cápsula.....	183
5.1.2.6 Fibras colágenas da subcápsula.....	183
5.1.2.7 Fibroblastos da subcápsula.....	184
5.1.2.8 Células inflamatórias da subcápsula.....	184
5.1.2.9 Vasos sanguíneos da subcápsula.....	185
5.1.2.10 Outras estruturas da subcápsula.....	185
5.2 Do tempo de presa.....	186
6 Discussão.....	189
6.1 Da metodologia.....	189
6.1.1 Da implantação subcutânea.....	189
6.1.2 Dos materiais empregados.....	196
6.2.1 Da escolha do CPM.....	196
6.1.2.2 Da escolha do Clínquer do cimento Portland.....	197
6.1.2.3 Da escolha do Sulfato de Cálcio.....	199
6.1.2.4 Da escolha do controle (guta-percha).....	199
6.1.3 Do tempo de presa.....	200
6.2 Dos resultados.....	201
6.2.1 Do comportamento tecidual.....	201

6.2. Do tempo de presa.....	203
7 Conclusões.....	207
8 Referências.....	211
Anexos.....	229
Apêndices.....	234

The bottom of the page features a series of overlapping, semi-transparent geometric shapes in shades of orange and beige, creating a modern, layered effect.

1 INTRODUÇÃO

1- INTRODUÇÃO

A especialidade endodôntica, através do tratamento convencional ou cirúrgico do sistema de canais radiculares, preocupa-se em eliminar, neutralizar e impedir o acesso de microorganismos e seus produtos às estruturas periodontais.

Os esforços da odontologia atual concentram-se na manutenção dos dentes naturais do paciente, e a cirurgia parendodôntica traduz-se no recurso prévio à extração dental, quando constatado o fracasso endodôntico e inviabilidade do retratamento.

Juntamente com a técnica cirúrgica, um dos propósitos da colocação do material retrobturador, de acordo com **PITT FORD¹²¹ et al**, é evitar o acesso de produtos microbianos, provenientes do sistema de canais radiculares aos tecidos periapicais. Idealmente, o mesmo deve ser atóxico, não reabsorvível e exibir propriedades osteoindutoras ou ao menos, não interferir com a transcorrência normal do reparo até a completa neoformação dos tecidos parendodônticos. A superfície de contato entre o cimento retrobturador e os tecidos periodontais é grande, logo, a menor irritação presente é traduzida em inflamação. Segundo **TROWBRIDGE e EMLING¹⁵⁹**, a persistência de infecção local pode impedir a formação completa do tecido conjuntivo e perpetuar a lesão inflamatória.

Qualidades como facilidade de manipulação e inserção na cavidade, simplicidade na obtenção, baixo custo, radiopacidade adequada e manutenção das propriedades físicas em meio úmido acrescentam condições essenciais a um cimento retrobturador. Sabe-se que a obtenção de um bom cimento retrobturador, com boas características físico-químicas e biológicas é um fator primordial para o sucesso de cirurgias parendodônticas.

Diversos materiais têm sido recomendados para o selamento de cavidade para a obturação retrógrada, destacando-se entre eles o EBA, Super EBA, Óxido de Zinco e Eugenol, e outros.

Com o aparecimento do Agregado Trióxido Mineral, em 1993, desenvolvido por **TORABINEJAD** uma nova alternativa de tratamento se estabeleceu. Lançado inicialmente no mercado pela Dentsply, com o nome de ProRoot, tem merecido a atenção de diversos pesquisadores dentre eles **HOLLAND et al⁶³**, **ESTRELA⁴⁵**, **BRAMANTE et al¹⁷**, que atestaram as propriedades físico-químicas e biológicas desse material.

A partir do trabalho de **WUCHERPFENNING¹⁶⁶** em 1999, levantou-se a hipótese de que o MTA fosse originado do cimento Portland, dados esses confirmados em outros trabalhos (**ESTRELA⁴⁵**, **BORTOLUZZI¹³**, **JUAREZ BROON⁷⁵**).

O cimento Portland se origina da matéria-prima argila e calcário moídos. No processo de fabricação, primeiramente ocorre à diminuição do tamanho de suas partículas, e depois estas são misturadas a outros componentes em proporções adequadas (pré-homogeneização). Esta mistura é então submetida a altas temperaturas de aproximadamente 1450°C. Nestes grandes fornos, o material sofre fusão incipiente formando pequenas bolas denominadas de clínquer. O Clínquer, depois de resfriado, é novamente triturado até se transformar num pó bastante fino, ocorre à adição de gesso (sulfato de cálcio) e é armazenado e vendido a granel. O Sulfato de Cálcio é adicionado ao clínquer para retardar, ou seja, prolongar o tempo de presa e melhorar as condições de trabalho do material.

Segundo **ESTRELA et al** ⁴⁵, o cimento Portland possui vários constituintes, mas os principais são: silicato tricálcico (3CaO-SiO_2), silicato dicálcico (2CaO-SiO_2), aluminato tricálcico ($3\text{CaO-Al}_2\text{O}_3$), ferroaluminato tetracálcico ($4\text{CaO-Al}_2\text{O}_3\text{-Fe}_2\text{O}_3$), sulfato de cálcio di-hidratado ($\text{CaO.SO}_3.2\text{H}_2\text{O}$), óxidos alcalinos e outros constituintes obtidos através de espectrofotometria de fluorescência.

O cimento Portland branco é classificado em dois subtipos: cimento Portland branco estrutural e não estrutural. O primeiro é usualmente aplicado em concretos brancos para fins arquitetônicos, já o não estrutural é aplicado no rejuntamento de azulejos e na fabricação de ladrilhos.

Assim, a Dentsply lançou no mercado em 2002 o ProRoot branco, sendo acompanhada em 2004, pela Ângelus que lançou o MTA branco. Também em 2004, a EGEO, indústria Argentina, lançou no mercado o CPM e o Endo-CPM- Sealer.

O CPM, segundo o fabricante, é um cimento Portland modificado com tempo de presa curto, possui características especiais de plasticidade, aderência, tamanho das partículas, superfície específica, pH, tolerância biológica, histocompatibilidade, estimulação osteogênica e alto escoamento.

Contém em sua composição: cimento Portland (75% a 85%), SiO_2 (3 a 5,5 %), Ca CO_3 (5% a 10%), BaSO_4 (10% a 20 %), trióxido de bismuto (10% a 20%) porcentagens essas expressas em peso. Este pó é misturado com água destilada estéril ou soro fisiológico estéril.

As aplicações do CPM são as mesmas do Agregado Trióxido Mineral. Usa-se como material de capeamento pulpar direto e indireto, como tampão apical indutor de formação de tecido mineralizado, em perfurações, fraturas transversais, luxações, reimplantes, reforço de paredes dentinárias, e nas cirurgias parendodônticas como material de obturação retrógrada. Um dos fatores relevantes é que quando este cimento extravasa para o ligamento periodontal não

implica em risco biológico pela tolerância biológica, ausência de mutagenicidade e potencial carcinogênico.

Esse material modificado é substancialmente livre de ferro ou com pequeno conteúdo, em torno de 0.5 % da sua composição; tem menor tempo presa, capacidade osteoindutora, favorece a mineralização e possui estabilidade química e dimensional através do tempo além da altíssima quantidade de íons cálcio; tem um pH entre 9.4 e 10, ótimo para promover a atividade da fosfatase alcalina que é um fator determinante do potencial reparador dentino-osteogênico; permite adesão de carbonato de cálcio que, à sua expensa, ocorre à formação da barreira mineralizada; apresenta menor tempo de endurecimento o que evita a dispersão e a toxicidade bem como, irritação do local pela sua presença física. A adição das pequenas partículas de dióxido de silício à composição do cimento facilitou a sua penetração nos canalículos dentinários, produzindo sua obliteração e selando-os adequadamente. Ao ser utilizado na temperatura corporal de 37 °C, não forma poros em sua superfície, tornando-a ideal para a aderência de células totipotentes, formando condições biológicas propícias para o reparo de processos patológicos promovendo a cicatrização num menor tempo possível. Apresenta uma área de superfície maior comparado a outros cimentos existentes até agora, devido ao tamanho de suas partículas e a presença de carbonato de cálcio e dióxido de silício. Não apresenta em sua composição mercúrio e chumbo, e tem menos de 2 ppm de arsênico, níveis muito abaixo dos toleráveis para esse tipo de materiais.

Um dos fatores inconvenientes do Agregado Trióxido Mineral quando utilizado como material de obturação retrógrada é apresentar um tempo de presa longo (2 horas e 45 minutos). Como o Agregado Trióxido Mineral provém do cimento Portland e este do clínquer, seu tempo de presa é longo o que tem levado alguns pesquisadores a adicionar o Sulfato de cálcio para diminuí-lo. O cimento Portland é o produto final do clínquer e a este, é adicionado cerca de 5% de sulfato de cálcio (gesso) para retardar a presa do cimento tornando-o mais facilmente utilizável.

Considerando que o clínquer puro é destituído de sulfato de Cálcio seu tempo de presa é bastante reduzido, o que facilitaria seu uso nos casos em que houvesse necessidade de uma presa mais rápida.

Já em relação ao acréscimo de Sulfato de Cálcio no cimento portland para retardar sua presa, trabalhos comprovam sua biocompatibilidade com tecidos o que motivou o estudo. O mecanismo de reposição óssea frente ao sulfato de cálcio foi avaliado por **ORSINI et al.**¹¹² 2004, utilizando-o na forma de grânulos e cimento. Foram utilizados 8 coelhos, nos quais se criou dois defeitos de 6 mm em cada tíbia. Os defeitos das tíbias foram preenchidos com

cimento de sulfato de cálcio e grânulos de sulfato e cálcio. Depois de duas semanas, ambas as formas de sulfato de cálcio ainda estavam presentes, havia 10% dos defeitos preenchidos com tecido ósseo neoformado, sendo este localizado ao redor do material. Após quatro semanas, o sulfato de cálcio, tanto em grânulos como em cimento, foi quase completamente reabsorvido e substituído por tecido ósseo, e aproximadamente 34% dos defeitos estavam preenchidos por osso neoformado. Além disso, não foram encontradas células inflamatórias e não houve diferença estatisticamente significativa entre as formas de apresentação do material. O sulfato de cálcio mostrou-se, portanto, um material reabsorvível, osteocondutor, e bem tolerado pelo hospedeiro, e pode representar uma alternativa razoável no preenchimento de defeitos ósseos.

Assim, parece viável, realizar um estudo comparando o CPM e o clínquer do cimento Portland branco com e sem o sulfato de cálcio, já que não existe na literatura estudo biológico que os compara; conhecer qual a influencia da adição de Sulfato de Cálcio na resposta tecidual e ainda o tempo de presa destes materiais para buscar o com melhor resultado, num tempo de trabalho adequado.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2- REVISÃO DA LITERATURA

A revisão da literatura é apresentada de forma cronológica, onde se procurou abordar os estudos mais relevantes para o desenvolvimento deste trabalho. Inicialmente foram revisados os trabalhos pertinentes à metodologia empregada; quanto ao MTA foram revistos trabalhos sobre compatibilidade biológica e alguns trabalhos recentes sobre propriedades físico-químicas, já que este não é o enfoque principal do estudo; estudos comparativos do MTA com o cimento Portland e trabalhos sobre Sulfato de Cálcio e CPM.

2.1 Sobre a implantação subcutânea

TORNECK¹⁵⁶, em 1966, foi o primeiro a introduzir os tubos de polietileno em pesquisas de implantação subcutânea. Ele avaliou a reação do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos frente à implantação de tubos de polietileno, relacionando a reação do tecido com o diâmetro e o comprimento dos tubos. Antes da implantação, os tubos foram desinfetados em solução de iodo, lavados em solução salina, secos com gases estéreis e armazenados em tubos também estéreis. Em um grupo os tubos foram mantidos com as duas extremidades abertas e no outro, uma das extremidades foi fechada termicamente. Após 60 dias de implantação, os animais foram mortos, os implantes e os tecidos adjacentes foram encaminhados ao processamento histológico. Os resultados mostraram a formação de uma cápsula fibrosa que envolvia os implantes, rica em fibroblastos e fibras colágenas. Segundo o autor, a ausência de inflamação no tecido conjuntivo capsular indica a aceitabilidade do material, um dos objetivos do teste. O diâmetro e o comprimento dos tubos parecem influenciar no reparo, criando um ambiente favorável para o reparo. Quanto mais comprido ou mais estreito for o tubo, mais dificilmente ocorre a invaginação do tecido conjuntivo para o seu interior. Nos tubos em que uma das extremidades foi selada, a invaginação ocorreu primeiro nos de pequeno diâmetro, indicando que alguns fatores influenciam no crescimento do tecido conjuntivo e são diferentes em cada sistema. O autor concluiu que os resultados obtidos indicam que os canais radiculares não obturados, porém completamente limpos e desinfetados, propiciam a cura dos tecidos periapicais.

TORNECK¹⁵⁷ (1967) investigou a reação do tecido conjuntivo de ratos a tubos de polietileno com fragmentos de músculo contaminados e comparou com a reação de tubos de polietileno com os mesmos fragmentos musculares, porém estéreis. Tubos de polietileno de variados comprimentos e diâmetros foram implantados cirurgicamente no dorso dos animais. Antes da implantação os tubos foram desinfetados em solução de iodo, depois lavados em solução salina, secos com gaze e armazenados em tubos estéreis até o uso. Em um grupo, os tubos foram mantidos com as duas extremidades abertas e no outro, uma das extremidades foi termicamente fechada. Alguns tubos selados em uma das extremidades foram preenchidos com fragmento de tecido muscular da perna traseira do rato e colocados em solução salina para serem autoclavados e outros foram preenchidos com o mesmo tecido muscular, só que contaminados com cocos Gram-negativos. Após 60 dias os animais foram mortos e o tecido contendo o tubo foi removido e preparado para análise microscópica. As colorações utilizadas foram H.E., Giemsa e Gram. Os resultados indicaram que o prognóstico de reparo foi menos favorável quando a luz do tubo foi preenchida com os debris musculares contaminados. Em ambas as condições do tubo preenchido (contaminado ou não), o reparo foi menos favorável do que quando o tubo estava estéril sem preenchimento algum.

Já em 1981, **OLSSON; SLIWKOWSKI; LANGELAND**¹¹⁰ avaliaram por meio do método de implantação subcutânea em ratos, a biocompatibilidade de vários materiais endodônticos, com o objetivo de enquadrá-los em níveis de toxicidade. Para isso empregaram tubos de teflon preenchidos com os materiais em teste: a cloropercha Nø, Kerr sealer e o AH-26. Foram utilizados 42 ratos da raça *Sprague-Dawley* com peso variando entre 350 a 450 gramas. Os tubos de teflon de 7 mm de comprimento por 1,3mm de diâmetro foram esterilizados, preenchidos com os cimentos e implantados nos ratos. Os animais foram mortos após períodos de 14, 30, 90 e 180 dias, e as peças removidas e preparadas para análise microscópica. Cortes seriados de 5µm foram obtidos e corados com H.E., Tricômico de Masson e Brown & Breen. A localização do material, o estado dos tecidos nas extremidades do tubo, a ocorrência e a localização de tecido necrótico e fibroso, os tipos de células inflamatórias foram observadas e registradas. A reação tecidual foi classificada como suave, moderada ou severa. Aos 14 e 30 dias, observaram partículas do material dispersas no tecido que envolvia os tubos, em vasos sangüíneos, em macrófagos e como corpo estranho no interior de células gigantes. Outro achado comum foi à presença de células inflamatórias crônicas com a formação de uma cápsula fibrosa contornando os materiais implantados. Aos 180 dias a inflamação crônica ainda persistiu. Vasos

sangüíneos e corpos estranhos, no interior de células gigantes, foram achados muito freqüentes neste período. Os autores concluíram que o teste foi adequado para a avaliação qualitativa dos materiais endodônticos, mas que a classificação de biocompatibilidade dos materiais só poderia ser considerada entre materiais com grande diferença de toxicidade.

ZANONI et al.¹⁷⁰ (1988) compararam a resposta do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos frente ao implante de tubos de polietileno e de dentina, obturados com Endomethasone. Foram utilizados 54 ratos, divididos em dois grupos, sendo que o grupo A recebeu implantes de tubos de polietileno com 1 cm de comprimento e 0,5cm de diâmetro interno e o grupo B recebeu tubos de dentina, preparados a partir da raiz palatina de molares superiores, seccionados com as mesmas medidas. Cada grupo foi subdividido em 3 subgrupos (A1, A2, A3, B1, B2 e B3). Os tubos foram autoclavados a 120°C, por 20 minutos e obturados com cones de guta-percha e o referido cimento. No subgrupo A1 e B1 foi deixado 0,5 a 1,0 mm de espaço vazio em uma das extremidades; nos subgrupos A2 e B2 de 1,5 a 2 mm e nos subgrupos A3 e B3 4 mm. Decorridos 7, 21 e 60 dias pós-operatório, os animais foram mortos, e as peças removidas foram preparadas para análise microscópica. Os cortes semi-seriados com 6µm de espessura foram corados com H.E. Todos os subgrupos, os quais receberam tubos de polietileno, apresentaram invaginação de tecido de granulação, com grau mais acentuado de infiltrado inflamatório nos períodos de 7 e 21 dias nos subgrupos A2 e A3 e de grau mais moderado no A1. Nestes mesmos períodos, quando utilizaram tubos de dentina, este tecido foi observado nos subgrupos B1 e B2 com infiltrado inflamatório de grau discreto a moderado. Contudo, o subgrupo B3 apresentou inflamação de grau moderado a intenso com prevalência linfoplasmocitária. Os subgrupos A3 e B3, em todos os períodos, apresentaram uma concentração de exsudato nos espaços vazios em contato com o material obturador e persistente reação inflamatória. No período de 60 dias, os subgrupos A1, A2, B1 e B2 apresentaram discreto infiltrado inflamatório. Portanto, os tubos de dentina de menor espaço vazio foram os que apresentaram melhor evolução para colagenização.

A biocompatibilidade de implantes Hapset R (hidroxiapatita associada ao sulfato de cálcio) foi estudada por **NARY FILHO**¹⁰⁸ (1996) em feridas de extração dental pela inserção de tubos de polietileno em alvéolos de ratos após extrações, contendo em suas extremidades Hapset e Guta-percha. Os animais foram sacrificados em períodos de 7, 15, 21 e 30 dias após as cirurgias. Verificou-se reação mais severa na região contígua ao implante de Hapset, indicando ser este material mais irritante que a Guta-percha. A metodologia empregada permitiu boa

análise comparativa entre os materiais empregados, podendo ser empregada em estudos de comportamento biológico de materiais odontológicos.

KOLOKOURIS et al.⁸¹ (1996) compararam, *in vivo*, a biocompatibilidade dos cimentos Ketac-Endo e Tubli-Seal quando implantados em tecido subcutâneo de 44 ratos Wistar-Furth. Os períodos experimentais foram de 5, 15, 60 e 120 dias. Para cada período havia um grupo controle. Após anestesia e desinfecção da área com álcool iodado a 5%, foram feitas incisões no dorso de cada animal e duas bolsas foram preparadas com aproximadamente 15 mm de profundidade. Tubos de teflon com 5 mm de comprimento e 1,6 mm de diâmetro interno contendo os materiais recém manipulados, foram implantados nos interior dessas bolsas. Ao final de cada período experimental os animais foram mortos por inalação de éter. Os tubos foram removidos juntamente com os tecidos adjacentes e fixados em formalina 10% por 48h, e as peças preparadas para análise microscópica. Os tipos celulares observados e a resposta inflamatória foram classificados em leve, moderada e severa. Uma reação discreta foi observada com o Ketac-Endo em cinco dias, sendo que o tecido adjacente apresentou plasmócitos, linfócitos e macrófagos. A intensidade diminuiu em 15 dias e continuou progressivamente diminuindo em 60 e 120 dias. Já para o Tubli-Seal, o tecido apresentou severa inflamação com diferentes extensões de necrose em 5 e 15 dias, apresentando-se irritante em 60 e 120 dias. Os autores concluíram que o Ketac-Endo é um material compatível e bem tolerado pelos tecidos.

KOLOKOURIS et al.⁸² (1998), avaliaram, *in vivo*, a biocompatibilidade do Apexit e Pulp Canal Sealer após implantação no tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. Quarenta e quatro ratos Wistar-Furth foram utilizados. Cada cimento foi colocado em tubos de teflon e implantado em locais específicos do dorso do animal. Os implantes foram removidos após 5, 15, 60 e 120 dias, fixados e preparados para avaliação microscópica. O estado do tecido adjacente, a ocorrência e localização do tecido fibroso, os vários tipos de células inflamatórias e as alterações vasculares foram examinados. A reação tecidual foi graduada em leve, moderada e severa. Reações inflamatórias severas com diferentes extensões foram observadas com o Apexit ao quinto e décimo dias. A intensidade da reação diminuiu progressivamente até o centésimo vigésimo dia. Foi caracterizada pela presença de tecido conjuntivo com poucos macrófagos. Nos espécimes de Pulp Canal Sealer foi observada inflamação de moderada a severa ao quinto dia. A

intensidade da reação diminuiu aos 15, 60 e 120 dias, mas permaneceu levemente maior que nos espécimes com Apexit nos períodos de observação maiores.

GORDUYSUS; ETIKAN; GOKOZ⁵⁷, em 1998, avaliaram a biocompatibilidade do Endo-Fill® quando implantado no tecido subcutâneo de ratos. Utilizaram 15 animais e quarenta tubos de polietileno de 10 mm de comprimento e 1,6 mm de diâmetro. Após anestesia e anti-sepsia foram realizadas quatro bolsas na região dorsal de cada animal, onde os tubos preenchidos com o material foram implantados. Um dos animais recebeu implantes de quatro tubos de polietileno vazios como controle. Passado os períodos de 2, 7, 14, 28 e 56 dias os animais foram mortos, e as peças preparadas para análise microscópica, realizando-se cortes seriados de 6µm de espessura e coloração por H.E. Após análise dos resultados, os autores observaram que ao final do período de 8 semanas houve a formação de uma fina camada de tecido conjuntivo ao redor do material e avançado processo de reparo, sem a formação de cápsula fibrosa e qualquer reação inflamatória neste período.

O comportamento do tecido conjuntivo subcutâneo ao implante de tubos de polietileno contendo proporções variadas de um cimento endodôntico à base de óxido de zinco e eugenol foi avaliado por **RAMALHO; SANTANA; RAMALHO¹²⁴** em 2000, para verificar a relação entre as características da reação inflamatória tecidual e a proporção de eugenol empregada. Foi demonstrado que a técnica do implante de tubos de polietileno é viável para o estudo preliminar da biocompatibilidade de materiais odontológicos. O cimento analisado mostrou-se irritante em todas as proporções empregadas, porém houve evidências da capacidade de reparo tecidual em longo prazo. A intensidade da resposta inflamatória tecidual foi diretamente proporcional à quantidade de eugenol. Aos 60 dias, o grupo experimental com menor quantidade de eugenol apresentou a menor intensidade de resposta inflamatória dentre todos os grupos experimentais (Mann Whitney $p < 0,001$). Concluiu-se que o eugenol é diretamente responsável por, no mínimo, parte da citotoxicidade dos cimentos endodônticos à sua base.

TRINDADE; OLIVEIRA; FIGUEIREDO¹⁵⁸ em 2003, avaliaram a resposta tecidual, em tecido subcutâneo de ratos, ao implante de tubos de polietileno contendo agregado trióxido mineral (MTA), cimento Portland, cimento Portland acrescido de 20 % de óxido de bismuto e

cimento Portland acrescido de 30 % de óxido de bismuto, nos tempos experimentais de 7, 15 e 30 dias. Foram utilizados 30 ratos, com aproximadamente 60 dias de idade e 200 gramas de peso, divididos em três grupos de dez espécimes cada de acordo com os tempos experimentais. Cada animal recebeu quatro amostras, uma de cada material em teste, no tecido subcutâneo, na região do dorso. Decorridos os períodos experimentais, foi procedida à análise microscópica nas porções próximas à extremidade dos tubos, sendo os eventos inflamatórios classificados de acordo com critérios de severidade da resposta tecidual. A análise estatística dos dados obtidos mostrou não haver diferenças significativas entre as respostas teciduais, para os diferentes materiais testados, nos três tempos experimentais. Todos os materiais mostraram significativa redução no grau inflamatório ao longo do tempo.

Diferentes materiais têm sido recomendados para terapia pulpar, ou mesmo para forramento do assoalho de cavidades profundas. Na presente pesquisa, realizada por **COSTA; BACALHAU; HEBLING**³¹ em 2003, avaliaram comparativamente a biocompatibilidade de quatro cimentos: grupo 1 - MTA, ProRoot (TM); grupo 2 - cimento Portland; grupo 3 - óxido de zinco e eugenol ; grupo 4 - controle, cimento de hidróxido de cálcio. Tubos de polietileno preenchidos com os materiais foram implantados no tecido conjuntivo subcutâneo dorsal de ratos. Decorridos os períodos de 7, 30 e 90 dias, biópsias da área dos implantes foram obtidas e os animais, sacrificados. As peças cirúrgicas foram processadas em laboratório, sendo que cortes histológicos com 6 µm de espessura foram corados com H.E. e analisados em microscopia. Todos os materiais avaliados desencadearam reação inflamatória aos 7 dias. Todavia, o MTA foi menos irritante, sendo o OZE o material que provocou reação inflamatória mais significativa. Apesar da presença de macrófagos, células gigantes não foram observadas para todos os materiais experimentais. Enquanto a cápsula formada junto à abertura tubular foi espessa para os grupos 2, 3 e 4, ela foi delgada para o grupo 1. Com o decorrer dos períodos, houve regressão no quadro inflamatório. A cápsula reacional foi delgada em todos os grupos avaliados. No último período de observação, houve completo reparo tecidual associado à formação de delgada cápsula fibrosa, sem presença de macrófagos ou células gigantes. Dentro das condições experimentais, foi possível concluir que o cimento MTA apresentou biocompatibilidade superior à dos demais cimentos avaliados. Porém, de acordo com as recomendações da ISO, todos os materiais dentários avaliados nesta pesquisa apresentaram biocompatibilidade aceitável.

KOWALSKI⁸³ et al. em 2004, estudaram, comparativamente, a resposta de tubos de polietileno preenchidos com Agregado Trióxido Mineral (MTA) de duas marcas comerciais. Para a realização do estudo foram utilizados doze ratos Wistar, do sexo masculino, com peso aproximado de 200g. Os tubos foram implantados na região de submucosa superior, do lado direito, contendo MTA (Dentsply) e, do lado esquerdo, MTA (Ângelus®). Seis ratos foram mortos sete dias após o implante e três após 60 dias. Realizou-se a dissecação da região correspondente ao local do implante e a área de contato com o material foi localizada para o processamento histológico. Os resultados mostraram reação tecidual similar para ambos os materiais. Observaram uma resposta inflamatória leve no período de sete dias que, praticamente, desapareceu após 60 dias. Nesse sentido, concluíram que as duas marcas comerciais de MTA produziram reação tecidual satisfatória em ambos os tempos experimentais.

A avaliação de biocompatibilidade dos cimentos endodônticos Sealapex, Apexit, Sealer 26 e Ketac Endo foi estudada por **VALERA et al.¹⁶¹** em 2004. Para isto, tubos de polietileno preenchidos com os quatros tipos de cimentos endodônticos foram implantados no tecido conjuntivo subcutâneo de 40 ratos. Os animais foram sacrificados após 14 e 90 dias. Primeiramente foi realizada a análise descritiva das reações encontradas no tecido conjuntivo em contato com os cimentos. A magnitude do infiltrado inflamatório, a presença e predominância de tipos celulares e sua distribuição com relação ao cimento empregado, os fenômenos reparativos, tais como proliferação angioblástica e fibroblástica, e formação de cápsula fibrosa, também foram subjetivamente quantificados. As análises dos resultados mostraram, estatisticamente, que todos os cimentos apresentaram, após 90 dias, redução de reação inflamatória, formação de cápsula fibrosa em contato com a abertura do tubo que continha o material de preenchimento e redução na proliferação fibroblástica. A proliferação angioblástica estava reduzida somente no grupo dos cimentos Sealer 26 e Ketac Endo. Todos os cimentos foram, parcial ou totalmente, fagocitados e a menor resposta inflamatória foi encontrada no grupo do cimento Sealer 26 em ambos os períodos de avaliação.

2.2 Sobre o MTA

Como foi salientado no Capítulo de Introdução, o MTA tem sido indicado para várias modalidades de tratamento e por esse motivo, procuramos aqui mostrar as pesquisas que suportam tais indicações. Chamamos atenção para os artigos que falam da citotoxicidade e biocompatibilidade do MTA.

O primeiro trabalho referente ao Agregado Trióxido Mineral (MTA) data de 1993, quando **LEE; MONSEF; TORABINEJAD**⁸⁷ da Universidade de Loma Linda (Loma Linda, Califórnia - EUA), desenvolveram um cimento com o propósito de selar as comunicações entre o sistema de canais radiculares e o periodonto. Neste trabalho, compararam a capacidade de selamento do MTA, amálgama e IRM em perfurações de dentes humanos extraídos. Cinquenta molares inferiores e superiores foram utilizados e as perfurações realizadas a partir da embocadura do canal na raiz mesial com broca esférica número 2. As perfurações foram seladas como segue: grupo I – 15 dentes com amálgama, grupo II – 15 dentes com IRM; grupo III – 15 dentes com MTA e grupo IV – 5 dentes sem selamento, que serviram como controle positivo. Os resultados mostraram que o material que apresentou menor infiltração foi o MTA (0,28), seguido do IRM (1,30) e o amálgama (1,53).

Em 1994, **TORABINEJAD et al.**¹⁴⁷, compararam a infiltração marginal, em presença ou ausência de sangue, em cavidades apicais preenchidas com amálgama, Super EBA, IRM e MTA. O estudo foi realizado em 90 dentes humanos extraídos, instrumentados e obturados, com exceção dos 2 mm apicais, que foram seccionados com inclinação de 90° e uma cavidade apical de 2 mm de profundidade, preparada com uma broca nº 331 em alta rotação. Cinco cavidades foram preenchidas com guta-percha sem cimento e outras cinco, com cera em bastão, que serviram como controle positivo e negativo, respectivamente. Os dentes foram divididos aleatoriamente em grupos de 10, na presença e ausência de sangue, no momento da colocação dos materiais em teste. Imediatamente foram imersos em solução corante azul de metileno a 1%, por 72 horas. As raízes foram cortadas e a penetração linear do corante dentro da cavidade apical foi avaliada utilizando o estereomicroscópio. A presença ou ausência de sangue não teve efeito significativo sobre a infiltração do corante, porém houve diferença significativa entre os materiais. O MTA mostrou infiltração menor do que os outros materiais, com ou sem contaminação de sangue.

HONG et al.⁷¹, em 1994, avaliaram microscopicamente a resposta tecidual frente às perfurações de furca seladas com amálgama ou agregado de trióxido mineral (MTA). Foram utilizados 32 terceiros e quartos pré-molares de seis cães da raça *Beagle*. Metade das perfurações foi mantida aberta por quatro semanas para que desenvolvessem lesões de furca, sendo que, passado esse período, foram seladas com amálgama ou MTA. A outra metade das perfurações foi selada imediatamente com os mesmos materiais. Depois de quatro meses, os animais foram mortos. A análise estatística das radiografias pré e pós-operatórias mostraram que as perfurações seladas com MTA cicatrizaram significativamente melhor do que aquelas seladas com amálgama. Análises histomorfométricas mostraram que as perfurações seladas com amálgama apresentaram mais inflamação e reabsorção óssea quando comparadas ao grupo do MTA. Os autores concluíram que o MTA é um material que pode ser utilizado em selamento de furca.

PITT FORD et al.¹²¹, em 1995, realizaram 28 perfurações em pré-molares inferiores de sete cães, com o propósito de avaliar a resposta do tecido na região de furca. Metade dos dentes teve as perfurações seladas imediatamente com amálgama e MTA e a outra metade, as perfurações foram contaminadas com saliva e deixadas abertas ao meio bucal por 6 semanas, para posteriormente serem seladas com amálgama e MTA. Os animais foram sacrificados após quatro meses e as peças, analisadas microscopicamente. Os resultados mostraram que os dentes selados imediatamente com o amálgama, tiveram inflamação de moderada a severa, enquanto que com o MTA ocorreu à formação de novo cimento em cinco, de seis dentes. Os dentes contaminados e selados com o amálgama mostraram áreas de inflamação e com o MTA, 3 estavam livres dela e 4 com áreas inflamadas. Com base nesses resultados, os autores concluíram que o MTA é mais conveniente que o amálgama para o reparo de perfurações, especialmente quando estas, foram seladas imediatamente.

TORABINEJAD et al.¹⁴⁹, em 1995, realizaram um estudo *in vitro* para avaliar a citotoxicidade do MTA, amálgama, Super-EBA e IRM. Foram utilizados fibroblastos de camundongos do tipo L929 e os métodos de cobertura com ágar e liberação de radiocromo. A técnica de cobertura com ágar mostrou que o amálgama tanto recém-manipulado, quanto após a reação de presa, foi significativamente menos tóxico que os outros materiais testados. O MTA alcançou o 2º lugar. Após 24 horas de incubação, a análise revelou uma diferença significativa entre a toxicidade dos materiais estudados tanto antes como após a reação da presa. Neste caso o

MTA foi o material menos tóxico, seguido pelo amálgama, Super-EBA, e IRM. Baseado no resultado obtido os autores acreditam que o MTA seja um material com potencial para uso em retrobturação permitindo assim avaliações do mesmo *in vivo*.

Em 1995, **KETTERING; TORABINEJAD**⁷⁷ investigaram o potencial mutagênico do IRM e do Super-EBA, os quais são materiais indicados para obturações retrógradas, comparando-os ao MTA. No estudo foi utilizado o teste de mutagenicidade de Ames e cepas de *Salmonella typhimurium* LT-2 que são bactérias sensíveis a diferentes classes de mutagênicos. Os resultados mostraram que nenhum material avaliado mostrou qualquer efeito mutagênico. Os autores concluíram que o material ideal para obturação retrógrada deve apresentar boa estabilidade dimensional e não ser mutagênico. Concluíram ainda que todos os materiais testados não apresentaram efeito mutagênico por efeito potencial direto ou indireto. Os autores concluíram que, pelo fato de o MTA proporcionar um selamento superior quando comparado a outros materiais normalmente empregados para obturação retrógrada e ainda por ser menos citotóxico e não mutagênico, é interessante a realização de estudos *in vivo* antes da indicação clínica do mesmo.

TORABINEJAD et al.¹⁵⁰, em 1995, realizaram um estudo para avaliar a reação tecidual frente a implantes de Super-EBA e MTA em mandíbulas de sete porquinhos da Índia. Após anestesia e incisão foram preparadas, em cada animal, duas cavidades ósseas de 2 mm de diâmetro e 2 mm de profundidade. Os materiais foram colocados em tubos de teflon e implantados nessas cavidades. Duas foram deixadas vazias e usadas como controles negativos. Após 2 meses os animais foram mortos e as peças processadas para análise microscópica. Foram avaliadas a presença de inflamação, o tipo celular predominante e a espessura do tecido conjuntivo fibroso adjacente a cada implante. Como resultado observaram que a reação tecidual ao MTA foi pouco menor do que a observada com Super-EBA. Todas as amostras do Super-EBA apresentavam tecido conjuntivo fibroso próximo ao cimento, entretanto, no grupo do MTA, foi observado tecido ósseo adjacente ao implante em 1 das 5 lâminas. Foi observada uma inflamação leve em todos os implantes de Super-EBA, porém, 3 dos 5 implantes de MTA estavam livres de inflamação. As células inflamatórias encontradas ao redor de ambos os materiais eram predominantemente macrófagos e células gigantes. O tecido conjuntivo fibroso adjacente ao implante de Super-EBA era mais fino que do implante de MTA. Baseados nos

resultados desse estudo, os autores concluíram que os dois materiais parecem ser biocompatíveis.

A resposta dos tecidos periapicais de cães ao MTA e ao amálgama foi investigada por **TORABINEJAD et al.**¹⁵¹, em 1995. Foram utilizados os terceiros e quartos pré-molares inferiores de 6 cães da raça *Beagle*. Após a abertura coronária e preparo químico-mecânico dos canais radiculares, estes foram deixados abertos e expostos às bactérias orais por 2 semanas e então selados com Cavit por mais 4 semanas, para o desenvolvimento de lesões periapicais. No grupo I (12 dentes) os canais foram posteriormente obturados com gutta-percha e cimento Roth®, e as cavidades de acesso seladas com MTA. No grupo II (12 dentes) os canais foram posteriormente obturados somente com gutta-percha, sem o cimento obturador, e as cavidades de acesso não foram seladas, ficando expostas ao meio oral. Entre 1 e 2 semanas pós-obturaço, os dentes foram submetidos à apicetomias e retroburturaes com amlgama ou MTA. Depois de 2, 5, 10 e 18 semanas os animais foram mortos. Os resultados mostraram que os tecidos perirradicular de todas as razes obturadas com amlgama tinham inflamao de moderada a severa, enquanto somente 1/3 das obturadas com MTA tinham inflamao moderada. Observou-se que no perodo de 2 a 5 semanas houve predomino de leuccitos no grupo do amlgama, e de linfcitos no grupo do MTA. J com 10 a 18 semanas nos 2 grupos os linfcitos predominaram. No houve formao de cpsula fibrosa sobre o amlgama, estando mesma presente em 19 das 21 amostras onde o MTA foi utilizado. No perodo de 2 a 5 semanas, ocorreu formao de cimento em 1 das 11 amostras do MTA e no perodo de 10 a 18 semanas todas apresentaram (10 amostras), enquanto que no grupo do amlgama nenhuma formao de cimento foi evidenciada. Os autores conclram que tanto o tipo de obturao do canal como o selamento ou no da cavidade de acesso influenciaram na formao de cimento sobre a rea da raiz seccionada. Segundo os autores, o MTA provavelmente capaz de induzir a ativao de cementoblastos, formando uma matriz para a neoformao cementria, alm de sua excelente capacidade seladora, elevado pH e a liberao de substncias capazes de ativar a cementognese.

Os efeitos do MTA e do hidrxido de clcio (Dycal) em capeamentos pulpar diretos foram avaliados por **MYERS et al.**¹⁰⁵ em 1996. Pequenas exposies pulpares foram realizadas em dentes de ces e capeadas com os materiais em estudo. As cavidades de acesso foram restauradas com amlgama. Aps 90 dias a viabilidade pulpar de 16 dentes capeados com MTA e 15 com Dycal foi avaliada histologicamente. reas de exposio de nove dentes capeados com MTA e 11 com Dycal tm sido avaliadas quanto extenso e qualidade da ponte de

dentina formada. Os resultados mostraram não haver diferença significativa entre os materiais de acordo com os critérios adotados. Os autores concluíram que tanto o MTA como o Dycal tiveram bom desempenho como materiais capeadores, foram biocompatíveis ao tecido pulpar e estimularam a deposição de dentina nas pequenas exposições.

PITT FORD et al.¹²², em 1996, compararam a resposta da polpa dental de macacos ao hidróxido de cálcio (Dycal) e ao MTA quando utilizados como materiais capeadores. No estudo foram utilizados 12 incisivos inferiores. Após 5 meses, os animais foram mortos e foi realizado o processamento histológico, utilizando as colorações de H.E. e Brown & Breen. Os resultados mostraram que todas as 6 polpas capeadas com MTA apresentaram ponte de dentina adjacente ao material, sendo esta espessa e contínua à dentina original, com os túbulos dentinários, ausência de defeitos tipo túnel ou de inclusões de tecido mole. Apenas uma das 6 polpas do grupo do MTA estava inflamada. Em contraste, das 6 polpas capeadas com Dycal somente duas apresentavam ponte de dentina e todas estavam inflamadas severamente e com predominância de leucócitos polimorfonucleares. Segundo os autores, este quadro deve-se provavelmente à infiltração na interface amálgama estrutura dental e à diluição do Dycal. Não foram observadas bactérias nas paredes cavitárias de nenhum dente do grupo do MTA, o que não aconteceu com o grupo do hidróxido de cálcio, onde foram observadas em 1 dente. A ausência de infiltração bacteriana no grupo do MTA é resultado provavelmente de sua lenta reação de presa, que faz com que sua contração seja pequena, e também por sua solubilidade, que é praticamente nula. Os autores concluíram que o MTA é um material conveniente para proteção pulpar direta.

TORABINEJAD et al.¹⁵² (1997) avaliaram a resposta dos tecidos periapicais após retrobturação com MTA e amálgama. Foram utilizados 12 dentes incisivos maxilares de 3 macacos. Os dentes foram instrumentados e obturados com cones de guta-percha e cimento, e as cavidades de acesso restauradas com amálgama. A seguir, foram realizadas apicetomias e as cavidades apicais foram preparadas. Metade dos dentes de cada animal foram retrobturados com amálgama e a outra metade com MTA. Após 5 meses os animais foram mortos e a resposta tecidual perirradicular foi avaliada microscopicamente. Dos 6 espécimes preenchidos com MTA, apenas um mostrou inflamação periapical severa. Em todos os 5 espécimes sem inflamação, havia uma camada de cimento sobre o MTA e fibras periodontais podiam ser

observadas inseridas nesse cimento em alguns locais. Em contraste, todos os 6 espécimes preenchidos com amálgama apresentaram inflamação periapical (2 moderada e 4 severa). As células inflamatórias mais comumente encontradas nesse grupo foram os linfócitos próximos ao material. Uma cápsula fibrosa foi observada recobrendo o material retrobturador, não sendo encontradas bactérias em nenhum dente de ambos os grupos. Houve formação óssea, em ambos os grupos, na loja cirúrgica.

KOH et al.⁷⁹, em 1997, estudaram a ação do MTA na produção de citocinas em osteoblastos humanos e se o mesmo permitia uma boa aderência das células à superfície do material. Para o estudo, utilizaram um meio de cultura para osteoblastos (MG-63), onde foi colocado o MTA e o Polimetilmetacrilato (PMA – cimento usado comumente na ortopedia) e como grupo controle, placas de células sem presença de MTA. Os resultados mostraram crescimento celular na superfície do MTA a partir de 6 horas e incrementando-se até 144 horas, ao contrário das sem MTA ou na presença de PMA, que produziram quantidades não detectáveis de células. Os ensaios de ELISA mostraram níveis aumentados de todas as interleucinas, na presença de MTA (IL-1 α - 175,1 $\pm$ 32,6 pg/ml.); (IL-1 β - 154,0 $\pm$ 26,7 pg/ml.); (IL6 - 214,7 $\pm$ 21,8 pg/ml.), em contraste com o PMA, enquanto que sem a presença de MTA, produziram um conteúdo insignificante de citocinas.

Os materiais utilizados para obturação retrógrada, por ficarem em íntimo contato com os tecidos perirradiculares, precisam ser altamente biocompatíveis. Assim **TORABINEJAD et al.**¹⁵³ (1998), estudaram a reação tecidual causada pelo implante de diversos materiais utilizados para obturação retrógrada, na mandíbula e na tíbia de porquinhos da Índia. Os materiais testados foram o MTA, amálgama, IRM e Super-EBA. Após anestesia, foram preparadas cavidades ósseas de 2 mm de diâmetro e de profundidade, em 20 animais. Os materiais foram colocados em tubos de teflon e implantados na tíbia e após 10 dias, o mesmo procedimento foi realizado na mandíbula. Os animais foram mortos 30 dias após o implante mandibular e os tecidos preparados para o exame microscópico. A avaliação foi realizada por dois examinadores que desconheciam qual material havia sido implantado. Em ambos os locais, a reação tecidual observada para o MTA foi mais favorável, ocorrendo em todos os espécimes ausência de inflamação. Na tíbia, o MTA foi o material que mais frequentemente mostrou aposição óssea direta, permitindo considerar o MTA como um material biocompatível. A

resposta ao IRM e ao Super-EBA foram similares e não tão favoráveis quanto ao MTA. A inflamação adjacente ao amálgama foi significativamente maior do que a dos outros materiais.

Para investigar a resposta celular ao MTA, **KOH et al.**⁸⁰ (1998) estudaram a citomorfologia dos osteoblastos na presença desse material, bem como a produção de citocinas. As citocinas são glicoproteínas de baixo peso molecular secretadas como resultado da estimulação celular e consideradas extremamente potentes, uma vez que interagem com receptores celulares, levando a mudanças na síntese do RNA celular e de proteínas, e também no comportamento celular. As citocinas estão envolvidas na coordenação do metabolismo ósseo. O estudo também tinha como objetivo explicar o motivo pelo qual o MTA parece induzir a cementogênese, investigando-se a capacidade celular de produzir uma matriz, a qual posteriormente poderia ser calcificada. Os materiais testados foram MTA e IRM, os quais foram manipulados conforme instruções do fabricante e colocados separados em placas de Petri. Os osteoblastos (linhagem celular MG-63) cresceram em confluência no meio de Eagle modificado por Hams/Dulbecco's, e foram semeados em placas que foram incubadas por 1 a 7 dias. Os espécimes foram visualizados por microscopia eletrônica de varredura. Para avaliação das citocinas, as células foram postas para crescer tanto sozinhas, quanto em placas contendo os materiais a serem testados por 1 a 144 horas. Os meios foram removidos para análise ELISA de interleucinas (IL-12, IL-1B, IL-6) e fator estimulador de colônias de macrófago. Os resultados da microscopia eletrônica de varredura mostraram que havia diferenças marcantes na morfologia celular entre as células cultivadas na presença do IRM, do MTA ou as que cresceram sozinhas ao 1º e 3º dias. As células cultivadas contra o MTA apresentaram morfologia normal, aparência achatada e estavam aderidas ao cimento, em íntimo contato com o mesmo, indicando que o MTA foi biocompatível. As células controle cresceram em confluência e as células na presença do IRM (tanto fresco, como após a presa) eram arredondadas e esparsas, indicando que o IRM é tóxico. O teste ELISA revelou níveis elevados de todas as interleucinas (que são citocinas) 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. O fator estimulador de macrófagos foi produzido pelas células independentemente do material que estava sendo testado, demonstrando que o MTA atua como um substrato biologicamente ativo para as células ósseas e estimula a produção de interleucinas.

A capacidade indutora da formação da barreira de tecido mineralizado no tratamento de dentes com rizogênese incompleta foi investigada por **SHABAHANG et al.**¹³², em 1999.

Foram utilizados 64 pré-molares de 4 cães da raça *Beagle* com 6 meses de idade. Os dentes foram expostos ao meio oral por 14 dias para o desenvolvimento de lesões periapicais. Em seguida realizou-se o preparo químico-mecânico e curativo com pasta de Ca(OH)_2 por 1 semana. Os canais foram divididos em 4 grupos: no grupo 1, os canais foram preenchidos com O-P1 (proteína morfogenética), no grupo 2 com pasta de Ca(OH)_2 e no grupo 3 com MTA. O grupo 4 serviu como controle negativo e os canais foram preenchidos com colágeno. A abertura coronária de todos os grupos foi selada com MTA. Os animais foram mortos após 12 semanas, e as peças foram processadas para análise microscópica, empregando-se o programa Image-Pro Plus para calcular a quantidade de tecido mineralizado formado, assim como, o grau de inflamação adjacente à área do tecido neoformado. Os autores concluíram que o MTA promoveu uma formação de tecido mineralizado mais intensa do que os outros materiais. Não houve diferença estatística significativa na quantidade de tecido mineralizado neoformado entre os materiais testados. Da mesma forma, concluíram que não houve diferença estatística significativa quanto ao grau de inflamação entre os grupos avaliados.

MITCHELL et al.⁹⁸ (1999) avaliaram a biocompatibilidade de três variações de MTA, três materiais utilizados em enxerto ósseo sintético (gesso de Paris, Interpore 200 e Biogran) e do cimento de hidróxido de cálcio (Dycal), por meio do cultivo de células de osteossarcoma MG63, observando a citomorfologia e o crescimento celular, e examinando a produção de citocinas pelas células. O crescimento celular foi quantificado pela preparação de amostras (n=6) a 2, 4 e 7 dias, para visualização por microscopia eletrônica de varredura, e então, foi feito um escore da quantidade de material que estava recoberto por células saudáveis. A seguir, amostras de meio de cultura foram testadas usando o teste ELISA para expressão das Interleucina (IL) 1 α , IL-6, IL-8, IL-11 e fator estimulador de colônia de macrófagos, que são as principais citocinas envolvidas na remodelação óssea. Esses testes foram comparados com os controles onde não havia nenhum material presente, onde o meio de cultura e o soro fetal bovino não tinham sido expostos às células. Os resultados mostraram um adequado crescimento celular sobre as variações do MTA, estando muitas áreas dos materiais completamente recobertas por células, após 2 dias. O crescimento celular foi adequado também para o Biogran e para o Interpore 200, no entanto, para o Dycal foi pobre. A expressão de IL-6 advinda das células só foi evidente na presença do MTA e do Interpore 200. A interleucina 8 foi expressa em altas concentrações somente na presença do MTA. Não houve evidência de expressão de IL-1 α e IL-11 com nenhum material. A produção de M-CSF foi alta para todos os materiais, sendo um

pouco menor para o Dycal e o gesso Paris. Essa citocinas apresenta importante papel no desenvolvimento e na maturação de osteoclastos, atraindo osteoclastos para locais de reabsorção e controlando o seu funcionamento. O estudo sugere que este é um fator secretado por osteoblastos saudáveis, e não requer a ativação de osteoblastos, ao contrário de outras citocinas estudadas. Os autores ressaltaram que o processo exato pelo qual os osteoblastos são ativados pelo MTA é ainda duvidoso. A solubilidade do MTA é mínima, mas é possível que ocorra alguma pequena diluição superficial do material, a qual estimula os osteoblastos a sintetizar IL-6 e IL-8. Outra possibilidade é que a microestrutura cristalina do MTA possa fornecer o estímulo necessário para a adesão celular, crescimento e expressão de citocinas. Concluíram afirmando que as variantes do MTA são biocompatíveis e apropriadas para muitas aplicações odontológicas, onde exista contato entre o material e os tecidos vivos.

A reação dos tecidos periapicais de dentes de cães após obturação dos canais radiculares com MTA e cimento de ionômero de vidro (Ketac-Endo®) foi investigada por **HOLLAND et al.**⁶⁴, em 1999. Para o experimento, foram utilizados 30 canais radiculares, que após a instrumentação, foram preenchidos com Otosporin por uma semana. Decorrido este período, foram novamente irrigados e secos, sendo metade dos canais obturados com gutta-percha e MTA, e a outra metade com gutta-percha e Ketac-endo. Os animais foram mortos após 6 meses. Os resultados mostraram em todos os dentes selados com MTA, ausência de reação inflamatória no tecido periapical e total fechamento do forame apical com um novo cimento. Os dentes selados com Ketac-endo mostraram apenas dois casos de fechamento apical parcial e 13 casos de ausência de fechamento bem como graus variados de inflamação crônica (geralmente moderada). Os autores concluíram que, o MTA exibiu propriedades biológicas superiores ao Ketac-endo, tornando possível a deposição de tecido mineralizado apical após obturação do canal radicular. Isto ocorre provavelmente porque o óxido de cálcio presente no MTA reage com o fluido tecidual e se transforma em hidróxido de cálcio.

Em 1999, **TORABINEJAD; CHIVIAN**¹⁵⁴ descreveram as indicações e os métodos de aplicação clínica do MTA, como sendo: capeamento pulpar em caso de pulpites reversíveis, pulpotomias, apicificações, reparo de perfurações radiculares não cirúrgicas e cirúrgicas, assim como a utilização em obturação retrógrada. Vários estudos, *in vitro* e *in vivo*, demonstram que o MTA evita a microinfiltração, salientam suas propriedades biológicas e explicam a capacidade de neoformação de tecido mineralizado, que além de ser bactericida e bacteriostático, é

biocompatível, quando colocado em contato com a polpa dental ou com os tecidos perirradiculares.

A citotoxicidade do MTA, amálgama e Super-EBA, foi avaliada por **KEISER; JOHNSON; TIPTON**⁷⁶ em 2000. Os autores utilizaram culturas de células de fibroblastos obtidos a partir do ligamento periodontal de terceiros molares impactados extraídos. Os materiais foram manipulados conforme as recomendações dos fabricantes e divididos em dois grupos. O primeiro incluiu os materiais recém-manipulados e o segundo grupo 24h após a sua manipulação e mantidos a 37°C e 100% de umidade. Os resultados mostraram que nos materiais do grupo recém-manipulados a toxicidade foi maior para o amálgama seguido do Super-EBA e por último o MTA. Já no grupo dos materiais utilizados 24h após a manipulação, a maior toxicidade foi para o Super-EBA, seguido do MTA, e por último, o amálgama. Os autores concluíram que o MTA pode ser indicado como material de obturação retrógrada nos casos em que são indicadas as cirurgias parendodônticas.

ZHU et al.¹⁷¹ (2000) realizaram um estudo, *in vitro*, para observar a capacidade de adesão de osteoblastos humanos a materiais freqüentemente utilizados em obturação retrógrada. Os materiais testados foram IRM, MTA, resina composta e amálgama. Discos contendo os materiais foram colocados por apenas 1 dia no meio de cultura, e então analisados ao microscópio eletrônico de varredura. A adesão, difusão, propagação ou expansão de células sobre a superfície de um material, representa a fase inicial da função celular. A persistência de células circulares ou arredondadas com pouca ou nenhuma difusão sugere que a superfície do material pode ser tóxica. Os resultados mostraram que os osteoblastos fixaram-se e propagaram-se sobre o MTA e sobre a resina composta formando uma monocamada de células. Sobre o amálgama, os osteoblastos fixaram-se, mas com pouca difusão de células. Na presença do IRM, os osteoblastos apresentaram forma circular e sem expansão. Os resultados indicaram uma resposta favorável ao MTA e à resina composta em comparação ao IRM e amálgama.

DUMSHA; HOLT⁴², em 2000, investigaram a biocompatibilidade do ProRoot®, do cimento ósseo e Super-EBA em caninos de cinco furões. Foram utilizados os dois caninos inferiores de cada animal, que após receberem tratamento endodôntico convencional tiveram os 3 mm radiculares apicais removidos e as cavidades retrógradas aí preparadas foram preenchidas

com os materiais a serem testados. Decorrido o período de 6 semanas os animais foram mortos, as peças removidas, radiografadas e preparadas para análise microscópica. A análise radiográfica mostrou neoformação óssea adjacente aos três materiais testados. Houve reação inflamatória moderada em todos os espécimes, com a presença de macrófagos, células plasmáticas e fibroblastos. Os autores concluíram que os 3 materiais foram bem tolerados pelos tecidos periapicais, podendo ser considerados potenciais materiais retrobturadores.

WILLERSHAUSEN et al.¹⁶⁴, em 2000, testaram a citotoxicidade e o poder antiinflamatório do MTA (Dentsply), RSA (Roeko), implantes de titânio (Straumann), Sealapex (Kerr) e amálgama (Dispersalloy/Dentsply). Fibroblastos gengivais, nasais e tumor de células epiteliais foram utilizados como sistemas de cultura. As culturas de células sem contato com os materiais serviram de controle. A vitalidade celular foi determinada pela mensuração das proteínas e contagem de células por meio de um microscópio de fluorescência. 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.

MORETTON et al.¹⁰³ (2000) compararam a biocompatibilidade e o potencial osteocondutivo e osteoindutivo do MTA e do cimento EBA, após implantes subcutâneos e intra-ósseos em ratos. A reação tecidual foi avaliada aos 15, 30 e 60 dias após os implantes. Os implantes subcutâneos de MTA induziram, inicialmente, reações severas como necrose por coagulação, calcificação distrófica e áreas de fibrose. O infiltrado inflamatório era constituído de macrófagos, linfócitos e células plasmáticas, estando presentes, também, células gigantes tipo corpo estranho. Com o tempo, a reação tornou-se moderada. Já os implantes de cimento EBA induziram, inicialmente, a reações moderadas com infiltrado predominantemente composto por linfócitos e alguns macrófagos. Com o decorrer do tempo, o material foi encapsulado por tecido conjuntivo fibroso e a inflamação foi predominantemente suave. Osteogênese não foi observada com nenhum dos materiais nos implantes subcutâneos, indicando que os materiais não foram

osteointutores. As reações teciduais aos implantes intra-ósseos, para ambos os materiais, foram menos intensas do que para os implantes subcutâneos. Ocorreu osteogênese associada a esses implantes, indicando que ambos os materiais são osteocondutores. Os dois materiais foram considerados biocompatíveis. O EBA foi considerado de nível 2, isto é, materiais como gutapercha 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 induz uma resposta inflamatória inicial de moderada a severa, incluindo respostas teciduais como formação de células gigantes do tipo corpo estranho, necrose por coagulação e calcificações distróficas e essa resposta diminuiu com o tempo.

FARACO JÚNIOR; HOLLAND⁴⁶ (2001) analisaram histomorfologicamente a resposta da polpa de dentes de cães submetida ao capeamento com MTA e cimento de hidróxido de cálcio (Dycal). Foram utilizados três cães, com oito meses de idade. Após anestesia e isolamento absoluto do campo operatório, realizaram-se exposições pulpare com 0,5mm de diâmetro na face vestibular dos dentes. As quais foram protegidas com os materiais em teste, sendo as cavidades seladas com o cimento de óxido de zinco e eugenol. Após 2 meses, os animais foram mortos e as peças preparadas para análise microscópica. Os resultados mostraram que, em todos os espécimes capeados com MTA foram observadas pontes de tecido mineralizado do tipo tubular, sendo que em 8 espécimes foi observada uma pequena quantidade de tecido necrótico na porção superficial das pontes, e em muitos casos, esta se apresentava com pequenas irregularidades e morfologia distinta. Não foram observados infiltrados inflamatórios e microrganismos nos espécimes tratados com MTA. Já com o Dycal, foram constatadas pontes de tecido mineralizado em somente 5 casos, sem inflamação e sem zona de necrose superficial. Doze dos 15 espécimes do grupo do hidróxido de cálcio apresentaram processo inflamatório crônico, onde em 11 casos foram observadas partículas do material dispersas no tecido e no citoplasma de macrófagos. Bactérias gram-positivas foram encontradas na polpa coronária de 4 espécimes desse grupo. Os autores concluíram que o MTA é superior ao cimento de hidróxido de cálcio como capeador pulpar e, isto se deve a sua capacidade seladora, biocompatibilidade, alcalinidade e outras propriedades.

O processo de reparo de perfurações radiculares seladas com MTA foi avaliado por **HOLLAND et al.⁶⁶** em 2001. Quarenta e oito canais radiculares de dentes de cães foram instrumentados e obturados com cimento e cones de gutapercha. A seguir, foi realizada uma

perfuração com broca na área lateral da raiz. As perfurações foram seladas com MTA ou cimento Sealapex (grupo controle). A análise microscópica foi efetuada 30 e 180 dias após o tratamento. Os resultados mostraram ausência de inflamação e deposição de cimento sobre o MTA, na maioria dos espécimes. No período de 180 dias, o grupo do Sealapex exibiu inflamação crônica em todos os espécimes e pequena deposição de cimento sobre o material, em somente 3 casos. Concluíram que o MTA apresentou melhores resultados que o grupo controle.

HOLLAND et al.⁶⁸, em 2002, investigaram a reação do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos frente à implantação de tubos de dentina preenchidos com MTA branco (ProRoot). Os animais foram sacrificados após 7 e 30 dias. As peças foram preparadas para análise microscópica. Cortes teciduais de 10µm foram realizados empregando-se um micrótomo de tecido duro, que depois foram analisados com luz polarizada e técnica de Von Kossa para tecidos mineralizados. Os resultados observados foram os mesmos nos dois períodos experimentais, apresentando numerosas granulações birrefringentes à luz polarizada e uma estrutura irregular semelhante a uma ponte foi observada próximo ao material, ambos Von Kossa positivo. Os resultados foram similares aos reportados para o MTA cinza, indicando que os mecanismos de ação do MTA branco e cinza são similares.

HOLLAND et al.⁷⁰ (2002) estudaram a reação do tecido conjuntivo subcutâneo de 70 ratos após implantação de tubos de dentina preparados a partir de raízes de dentes humanos contendo os seguintes cimentos endodônticos: MTA, Sealapex, CRCS, Sealer 26 e Sealer Plus. Os animais foram mortos após 7 e 30 dias. No grupo controle, nos quais não se utilizaram cimentos nos tubos, observou-se, após sete dias, ligeira inflamação tecidual, porém, aos 30 dias tornou-se uma cápsula fibrosa com poucas células inflamatórias. O MTA e o Sealapex em contato com o tecido provocaram granulações mais numerosas do que os outros materiais, e o MTA formou uma estrutura mais extensa, no teste de Von-Kossa. Resultados semelhantes foram observados em todos os materiais estudados, exceto quando utilizados tubos com CRCS, os quais não apresentaram nenhum tipo de estrutura mineralizada sugerindo que este material poderia ter uma menor possibilidade de estimular a deposição de tecido mineralizado.

ANTUNES et al.⁵, em 2002, avaliaram, *in vitro*, a citotoxicidade do MTA e Super EBA, em cultura de fibroblastos embrionários da linhagem NIH-3T3, cultivados inicialmente com 1×10^4 células. Após a confluência, os materiais, previamente manipulados, foram adicionados em lamínulas. A observação da sobrevivência celular, quando em contato com os materiais em teste, em períodos de 1, 3, 5 e 7 dias, permitiu concluir que os grupos do MTA e Super-EBA não demonstraram diferença estatística entre si na diminuição do número de células viáveis ao longo do tempo decorrido, quando comparadas às do grupo controle. Houve, no entanto, crescimento celular até o final do experimento, com a presença dos materiais, o que indica que os dois produtos utilizados apresentaram o mesmo grau de toxicidade. Assim, os dois materiais podem ser considerados biocompatíveis em experimentos de toxicidade, em cultura celular de fibroblastos embrionários.

REGAN; GUTMANN; WITHERSPOON¹²⁵, em 2002, avaliaram o potencial do MTA e Diaket em promover a regeneração tecidual perirradicular quando utilizados como materiais retrobturadores. Foram utilizados sete cães, que depois de anestesiados tiveram os canais radiculares dos pré-molares inferiores limpos, modelados e obturados. A abertura coronária foi selada com IRM. Na mesma sessão foram feitas cirurgias parendodônticas nos mesmos dentes, e cavidades retrógradas foram realizadas com ultra-som com aproximadamente 1,0 a 1,5 mm de diâmetro e 1,5 a 2,0 mm de comprimento, que foram seladas com MTA ou Diaket. Sessenta dias após a cirurgia, os animais foram mortos, e as peças, contendo os dentes, removidas e preparadas para análise microscópica. Cortes teciduais de 6 µm de espessura foram corados por H.E. e pelo Tricômico de Masson e examinados no microscópio. Os resultados mostraram que não houve diferença estatística entre os materiais quanto à presença de inflamação e formação de abscesso. Houve grande quantidade de formação óssea associada aos materiais, como também a formação de novo ligamento periodontal. A presença de cimento foi variável, houve excelentes casos, onde o ápice radicular e os materiais retrobturadores foram completamente cobertos. Os autores concluíram que tanto o Diaket quanto o MTA podem auxiliar na regeneração do periodonto perirradicular quando utilizados como materiais retrobturadores.

ECONOMIDES et al.⁴³ (2003) investigaram a resposta dos tecidos perirradiculares ao MTA num curto espaço de tempo. Foram utilizados no experimento 24 canais radiculares de 2 cães saudáveis. Os animais foram anestesiados e procedeu-se a pulpectomia, sendo os canais obturados com guta-percha e cimento. Na mesma sessão foram realizadas cirurgias parendodônticas e o MTA e o IRM utilizados nas obturações retrógradas. Após os períodos experimentais de 1, 2, 3 e 5 semanas os animais foram mortos e as peças preparadas para análise microscópica. Os resultados mostraram que, para o grupo do MTA, a reação tecidual mais marcante após 1 semana foi à presença de um tecido conjuntivo frouxo. Inflamação foi observada ocasionalmente, e com o decorrer do tempo, sinais de reparação tecidual foram vistos, caracterizados por formação de tecido mineralizado, que cresceu progressivamente da periferia das paredes da raiz e junto à interface MTA/tecido mole. Em contraste, no grupo do IRM foi observada inflamação, de moderada a severa, em seis de oito raízes e não foi observada formação de tecido mineralizado. Os autores concluíram que o MTA é um material biocompatível que estimula o reparo do tecido perirradicular quando utilizado em retrobturações, entretanto a natureza do novo tecido formado necessita de futura elucidação.

HAGLUND et al.⁶⁰, em 2003, investigaram o efeito do MTA, IRM, amálgama e Retroplast no crescimento, morfologia celular e na produção de citocinas IL-1 β e IL-6 em fibroblastos e macrófagos de ratos. Colocaram os materiais recém manipulados e após a presa, em cultura de células de fibroblastos (L929) e macrófagos (RAW 264). Após 3 dias de incubação a 37°C, a morfologia celular foi examinada e realizada a contagem de células. Para a produção de citocinas foi utilizado o ensaio de ELISA, após incubação, por 24 horas, dos macrófagos, com os materiais em teste. Todos os materiais inibiram o crescimento das células e morfologicamente o MTA foi caracterizado com proteínas desnaturadas e células mortas adjacentes ao material, fato apenas observado no grupo de MTA recém manipulado. Não houve nenhuma produção de citocinas (IL-1 β e IL-6) em nenhum dos materiais testados.

A biocompatibilidade e o efeito mitogênico de materiais empregados para obturação retrógrada quando em contato com culturas de células osteoblásticas, odontoblásticas e células tronco da polpa dentária humana foram avaliadas por **SHIN et al.**¹³⁴, em 2003. Foram utilizados o IRM, Super-EBA, ProRootTM cinza e branco, Geristore® e RetroplastTM. Culturas de células crescida em placas sem os materiais serviram de controle. A fixação e morfologia das células

foram examinadas por meio de um microscópio eletrônico de varredura e a proliferação celular avaliada pelo teste MTT. Os resultados mostraram que após 6 horas em contato com os materiais, as células foram atraídas por eles, com exceção do Retroplast. Tanto o MTA cinza como o branco apresentaram efeito mitogênico sobre células osteogênicas e odontogênicas. Já o Geristore não apresentou qualquer tipo de estímulo para a proliferação celular. Os autores concluíram que o MTA e o Geristore são biocompatíveis, porém o MTA se mostrou superior aos demais materiais avaliados por apresentar maior efeito mitogênico sobre as células osteogênicas e odontogênicas.

O poder antimicrobiano do MTA quando associado à clorexidina foi estudado por **SUBRAMANIAN et al.**¹⁴², em 2003. Os autores utilizaram o ProRoot® com água destilada, ProRoot® com clorexidina a 0,12% e somente clorexidina em *E. faecalis* inoculados em placas com ágar BHI (Brain-Heart-Infusion). Após a colocação dos materiais e o período de incubação foi possível mensurar as zonas de inibição. Os resultados mostraram que a mistura da clorexidina com o ProRoot® foi significativamente melhor do que o ProRoot® com água destilada, porém, a clorexidina isoladamente promoveu halos de inibição maiores do que a mistura ProRoot® + clorexidina. Os autores concluíram que outros estudos devem ser realizados para se constatar se as demais propriedades já conhecidas do ProRoot® não podem ser alteradas pela associação com a clorexidina.

O comportamento de células do osteossarcoma MG-63 e de odontoblastos primários foi analisado quando em contato com o ProRoot MTA cinza e o MTA branco por **PÉREZ et al.**¹²⁰, em 2003. O comportamento foi comparado pela fixação e pela ação osteogênica de ambas as linhagens de células. As células permaneceram expostas por 6, 9 e 13 dias aos materiais, depois foram preparadas para exame no microscópio eletrônico de varredura. Pode-se observar que os números de células na superfície da placa de cultura, e sobre os materiais, aumentaram em todas as partes das amostras, nos três períodos de tempo, com exceção para o MTA branco, onde não foram encontrados osteoblastos primários sobre o material até o fim do 13º dia. 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, onde nódulos médios foram observados nas culturas dos osteoblastos primários, mas não foram encontrados nas culturas das células do osteossarcoma MG-63. Os autores concluíram que os osteoblastos primários não permaneceram fixados na superfície do MTA branco por um longo tempo em cultura, e que os osteoblastos primários são mais sensíveis

do que as células do osteossarcoma MG-63 para o MTA branco em culturas de células, sendo estas células mais apropriadas para testes de materiais endodônticos, *in vitro*.

Em 2004, **FERRIS; BAUMGARTNER**⁴⁹ avaliaram a capacidade de selamento em perfurações de furca de dois tipos de MTA, em molares superiores e inferiores humanos extraídos, usando o modelo experimental para infiltração de bactérias anaeróbicas. Foram selecionados 40 dentes, aleatoriamente, que tiveram suas coroas removidas e 5 mm no terço apical. As perfurações foram realizadas no centro do assoalho, em alta rotação, com broca número 330 e ampliadas com lima calibre 80, passando 5 mm além da superfície radicular. Logo após, os dentes foram divididos em dois grupos experimentais, com 18 cada, deixando 2 dentes para controle positivo e 2 para o grupo controle negativo. Os dois tipos de MTA utilizados foram: grupo I – MTA cinza (fórmula original) e grupo II – MTA branco (novo material). Os dentes foram montados em matrizes, para mantê-los a 37° e com 100% de umidade e o meio de cultura utilizado foi especificamente para o *Fusobacterium nucleatum*. Uma vez selados, os dentes foram armazenados em câmara anaerobiótica a 37°C e observados diariamente. As avaliações da infiltração bacteriana chegaram a 60 dias e os resultados mostraram que duas das 18 amostras seladas com MTA cinza e três das seladas com MTA branco filtraram, mas não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois tipos de MTA na prevenção da infiltração do *Fusobacterium nucleatum*, quando utilizado como selamento de perfurações de furca.

A reação do tecido conjuntivo subcutâneo frente ao MTA (Dentsply) e ao amálgama (Oralloy- Coltene) foi avaliada por **YALTIRIK et al.**¹⁶⁸ em 2004. Esses materiais foram colocados em tubos de polietileno e implantados no tecido conjuntivo dorsal de ratos albinos *Wistar*. As biópsias dos tecidos foram coletadas e analisadas histologicamente após 7, 15, 30, 60 e 90 dias da implantação. Foram avaliadas a presença de inflamação, tipo de célula predominante, calcificação e a espessura do tecido conjuntivo fibroso. Os escores foram definidos como: 0= nenhuma ou poucas células inflamatórias, sem reação; 1< 25 células, discreta reação; 2= 25 a 125 células, reação moderada; 3 >125 células, reação severa. A cápsula fibrosa foi categorizada com "fina" quando a espessura era <150µm e "densa" quando >150µm. A necrose e formação de calcificação também foram avaliadas. No período de 90 dias os resultados mostraram que ambos os materiais foram bem tolerados pelos tecidos. Um achado notável foi a presença de calcificações distróficas no tecido conjuntivo adjacente ao MTA. Os

autores concluíram que este achado é consistente com as hipóteses de indução da formação de tecido mineralizado pelo MTA.

CHONG; PITT FORD; HUDSON²⁶ em 2003, avaliaram o sucesso relacionado ao Agregado Trióxido Mineral. Pacientes adultos foram recrutados usando um cuidadoso critério de entrada e foram aleatoriamente alocados nos grupos de MTA ou IRM. Uma técnica cirúrgica padronizada foi utilizada onde a raiz foi ressectada perpendicularmente e a cavidade apical preparada com o ultrassom e preenchida com os materiais em teste. Radiografias tiradas na mesma sessão foram comparadas com o período de 12 e 24 meses. Um número maior de dentes com reparo completo foi visto no grupo do MTA. Quando os dentes com reparo completo ou incompleto foram confrontados houve um maior reparo no grupo do MTA do que no IRM. Entretanto na análise estatística não houve diferença significativa entre os materiais nos dois períodos. Concluíram que houve um grande índice de sucesso do MTA que não foi significativamente melhor do que no grupo do IRM.

ASRARI; LOBNER⁷ em 2003 salientaram que muitos materiais retrobturadores estavam sendo pesquisados quanto à toxicidade a muitos tipos de células, porém nenhum estudo havia comparado os efeitos desses materiais sobre os neurônios. Nesse estudo avaliaram neurotoxicidade em cultura de células cerebrais corticais para quatro tipos de materiais: amalgama, MTA, SuperEBA, Diaket. Quantidades padronizadas desses cimentos foram colocadas junto às células tomando-se o cuidado de não haver dano físico a elas. A morte celular foi quantificada pela liberação da enzima lactato desidrogenase do citossol. A exposição de células neuronais ao MTA por sete dias não causou morte neuronal significativa; já a exposição ao amalgama, Diaket ou SuperEBA causou morte celular significativa o que mostra que cada material, exceto o MTA, pode causar neurotoxicidade.

MAH et al.⁹² em 2003, testou a colocação de plugs apicais para aumentar o selamento de materiais obturadores convencionais. O estudo, *in vivo*, testou a eficácia do plug de agregado trióxido mineral branco (MTA) prevenindo inflamação periapical subsequente a contaminação da coroa dos dentes tratados. Pré-molares birradiculados de 6 cães da raça Beagle foram convencionalmente tratados e obturados com guta-percha e cimento. O plug de MTA branco foi

colocado em um dos canais de cada dente e a câmara pulpar foi contaminada com placa, exceto nos 12 dentes controle e restaurados. O controle radiográfico foi realizado em tempos regulares. Após 10 meses os animais foram mortos e suas mandíbulas retiradas para processamento e análise microscópica. Nenhuma das raízes apresentou sinais radiográficos ou significados histológicos de inflamação severa. Inflamação média foi observada em 17-39% das raízes com e sem o plug respectivamente. Como não houve desenvolvimento de inflamação severa, o autor não pôde afirmar que houve um aumento da eficácia de selamento com os plugs de MTA.

THONSON et al.¹⁴⁶ em 2003, investigaram os efeitos dos agregados trióxido minerais no crescimento de cementoblastos e produção de osteocalcina em cultura de tecidos. Para o estudo da morfologia celular cementoblastos foram colocados sobre o IRM, MTA, amálgama e incubados por 48 horas. Após fixação foram analisados em microscopia eletrônica. Para a expressão gênica sobre o Agregado Trióxido Mineral e IRM, a cadeia da transcriptase reversa foi utilizada como o gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase, colágeno tipo I, fosfatase alcalina, osteocalcina e sialoproteína óssea após 3 e 5 dias. A expressão da proteína osteocalcina sobre o MTA foi analisada depois de 7 e 12 dias. As imagens foram comparadas com os controles para as diferenças qualitativas. Os resultados sugeriram que o MTA permite a fixação de cementoblastos, crescimento e produção de genes de proteínas mineralizadas e expressão de marcadores de proteínas envolvidos na mineralização. O estudo indicou que o MTA pode ser considerado como cementocondutivo uma vez que expressa genes e proteínas constituintes do processo de cementogênese.

DUARTE et al.⁴⁰ em 2003, estudaram o pH e a liberação de íons cálcio em duas marcas comerciais de MTA. O ProRoot e o MTA-Angelus foram colocados em tubos plásticos e mergulhados em frascos de vidro contendo água deionizada. Após os períodos de 3, 24, 72 e 168 horas a água de cada um dos materiais foi analisada. Os valores de pH e liberação de íon cálcio foi pouco maior para o MTA-Angelus do que para o ProRoot. A liberação de íons cálcio foi inicialmente alta para ambos. Os resultados mostraram que os materiais liberam íons cálcio e que promovem a alcalinização do pH.

DIAMANTI et al.³⁶ em 2003, analisaram e compararam a composição química, pH e as características da superfície do MTA cinza com o MTA branco (ProRoot MTA). Os resultados da composição química pela difração de raios X mostraram que o MTA cinza e o branco têm muita similaridade com os cimentos Portland comuns, porém com diferenças entre os dois materiais. O óxido de ferro (Fe_2O_3) esteve ausente no MTA branco e o sulfato de cálcio (CaSO_4) ausente no MTA cinza. Após a mensuração com o pHmetro, o MTA branco apresentou um pH alto (11,32 - 11,38), imediatamente após o preparo e também durante o período de observação de 2 horas. Ambos os materiais, MTA cinza e branco, tiveram uma considerável superfície rugosa. Concluíram que o MTA cinza e branco (ProRoot MTA) são cimento Portland com alto pH e de superfície rugosa quando tomam presa.

A perfuração radicular é uma complicação indesejada no tratamento do canal e a literatura mostra tratamentos realizados com MTA. Em 2005, **MENEZES et al.**⁹⁷ descreveram um caso clínico de perfuração iatrogênica em nível supra ósseo que foi tratada com MTA e obtiveram sucesso. O dente foi tratado seguindo todos os cuidados e técnicas necessárias para proceder-se uma correta limpeza, instrumentação e obturação do canal, além do tamponamento com MTA realizado na perfuração. Após um mês, o paciente retornou sem edema, dor ou qualquer outra sintomatologia. Após seis meses foi considerado sucesso clínico e radiográfico.

BAEK; PLENK JR; KIM⁸ em 2005, compararam a resposta tecidual e a regeneração do cimento ante três materiais largamente utilizados como retrobturadores: amalgama, SuperEBA e o MTA. Esses materiais foram colocados por meio de cirurgia parendodôntica em molares e prémolares de cães. Após 5 meses os tecidos em contato com os materiais foram analisados microscopicamente. A maior diferença entre os três materiais foi relacionada ao grau de inflamação, tipo de células inflamatórias, número de formação de fibras capsulares, formação de cimento sobre os materiais, reparo ósseo e espessura do ligamento periodontal. O MTA foi o material que melhor se comportou na resposta do tecido periapical com neoformação de cimento que recobriu toda a extensão do material. O SuperEBA teve um comportamento melhor do que o amálgama como material retroobturador.

REZENDE et al.¹²⁶ em 2005 analisaram a produção de citocinas por dois tipos de macrófagos peritoneais ante dois tipos de MTA cinza: MTA ProRoot e MTA Ângelus.

Macrófagos peritoneais M1 e M2 de ratos foram mantidos em cultura, *in vitro*, em contato com os MTAs. A viabilidade celular, produção de fator de necrose tumoral, interleucina 10 e interleucina 12 em resposta a estimulação com o interferon gama e *fusobacterium nucleatum* ou *peptostreptococcus anaerobius* foram avaliadas. Como resultados os cimentos não apresentaram interferências na viabilidade celular ou na produção de citocinas por cada tipo de macrófagos. Entretanto, os M2 apresentaram níveis maiores de Interleucina 10 quando estimulados com *fusobacterium nucleatum* do que os macrófagos M1. Concluíram que os dois tipos de MTAs testados não interferiram na resposta de citocinas pelos macrófagos M1 e M2 para as duas bactérias testadas. Porém, uma diferença na produção de citocinas foi encontrada entre os dois tipos de macrófagos.

Em 2005, **GONDIM; KIM; SOUZA-FILHO**⁵⁶, fizeram um estudo quantitativo da capacidade de selamento do Super-EBA, IRM e ProRoot MTA por três técnicas diferentes de acabamento. Foram preparados 81 caninos humanos com técnica ultrassônica e aleatoriamente divididos em 3 grupos de 27 dentes cada. Cada grupo foi preenchido com MTA, Super-EBA e IRM e feito o acabamento e polimento. Após isso foram coletados 18 dentes de cada grupo e fizeram novo acabamento. Os exemplares foram imersos em azul de metileno a 2% por 12 horas e então foram analisados no espectrofotômetro de absorção. Os resultados revelaram que o MTA infiltrou menos que o Super-EBA e IRM e que o Super-EBA apesar de apresentar maior infiltração não foi estatisticamente diferente do IRM. A técnica de acabamento não influenciou na infiltração dos materiais testados. Os bons resultados obtidos com o MTA quanto a infiltração podem ser refletidos na sua boa adaptação marginal. Nenhum dos materiais foi capaz de impedir a infiltração.

NAKAYAMA et al.¹⁰⁷ em 2005, investigaram o comportamento de células de medula óssea de ratos sobre o MTA ProRoot e o IRM. As células osteoblásticas foram obtidas do fêmur de ratos e elas foram semeadas em três placas para cada material e incubadas por 3 dias. Após isso foram analisadas microscopicamente. A medula óssea se mostrou unida ao MTA e com uma aparência aplainada e sem protrusão nuclear. O microscópio de transmissão mostrou células unidas ao cimento da mesma maneira que o grupo controle, porém, espaços maiores que 2 micrômetros foram frequentemente vistos. No grupo do IRM poucas células arredondadas foram observadas sobre o material, mas nenhuma célula viva foi vista. Concluíram que o MTA é

um material de baixa toxicidade e que não inibiu o crescimento celular, mas suprimiu a diferenciação dos osteoblastos.

Em 2006, **OVIIR et al.**¹¹⁵ avaliaram os efeitos do MTA cinza e branco na proliferação de queratinócitos e cementoblastos orais. Usando a cultura de células estas cresceram por 72 horas na superfície dos dois cimentos em ambiente adequado e foram testadas no período de 24 horas e 12 dias. Os resultados mostraram que o MTA branco aumentou o crescimento de cementoblastos comparados ao controle ou aos queratinócitos. Ambas as células cresceram melhor na superfície do MTA branco do que no cinza e ainda o período de 12 dias mostrou um maior crescimento celular para o MTA cinza do que com 24 horas para o mesmo cimento.

MOHAMMADI; MODARESI; YAZDIZADEH⁹⁹ em 2006 estudaram e compararam o efeito antifúngico do MTA branco e do MTA cinza usando um teste de diluição em tubo. Os MTAs foram manipulados e após 24 horas testados sobre a *Cândida albicans*. Foram utilizados 60 poços divididos em 4 grupos de 10 cada e os controles de 5 cada para cada material. Aliquotas de *Candida albicans* foram semeadas no ágar dos grupos de MTA branco recém manipulado, MTA branco de 24 h de manipulado MTA cinza recém manipulado e MTA cinza após 24 h de manipulado. Todas as placas foram incubadas por 1, 24 e 72 horas. Os resultados mostraram que tanto no MTA recém manipulado quanto no de 24 horas houve crescimento de fungos, porém, com o aumento no período de incubação nenhum crescimento de fungo foi visualizado o que se conclui que ambos os cimentos, tanto o recém manipulados como não, são efetivos contra *C. albicans*.

TAKITA et al.¹⁴⁴ em 2006 investigaram os efeitos do Agregado Trióxido Mineral na proliferação de células de polpa humana. Células de polpa humana foram submetidas à cultura com MTA e hidróxido de cálcio, Dycal, usando cultura de células intercaladas. O grupo controle foi submetido à cultura somente em placas de cultura intercaladas. A proliferação celular foi medida após 14 dias com um kit contador de células e a concentração de íons cálcio liberados no material testado foi medido com um Kit de liberação de cálcio. A proliferação celular foi medida pela produção de cloreto de cálcio. Como resultados obtiveram que o MTA estimulou significativamente a proliferação celular, enquanto o Dycal não apresentou o mesmo efeito. O número de íons cálcio liberados pelo MTA foi significativamente maior do que os liberados pelo

Dycal. Os íons cálcio liberados do MTA tiveram maior habilidade na proliferação de células de polpa humana do que no Dycal ou no controle.

TANOMARU FILHO et al.¹⁴⁵ em 2006, analisaram o reparo periapical após obturação retrógrada com diferentes materiais em dentes de cães com lesões periapicais. Após a indução de lesão periapical, 48 canais foram parcialmente tratados. A cirurgia parendodôntica foi realizada com 3 tipos diferentes de materiais, Sealer 26, Sealapex com óxido de zinco ou MTA. Nenhum outro procedimento foi realizado no grupo controle após o tratamento parcial do canal. Após 180 dias os animais foram mortos e as mandíbulas e maxilas removidas para processamento histológico e análise microscópica. Os resultados mostraram similaridade entre os materiais quanto ao reparo periapical e que o grupo controle produziu um resultado insatisfatório. Não houve diferença entre os materiais para o reparo do tecido periapical após tratamento cirúrgico, o que indica que os três materiais podem ser igualmente utilizados

CINTRA et al.²⁷ em 2006, avaliaram e compararam quantitativa e qualitativamente a resposta inflamatória e a formação óssea após implantação, em alvéolos de ratos, de tubos de polietileno preenchidos com um novo cimento que contém hidróxido de cálcio (MBPc) e agregado trióxido mineral (MTA). Os ratos foram divididos em três grupos: grupo I, controle, onde o tubo permaneceu vazio e os grupos II e III que foram preenchidos com MTA e MBPc. Após os períodos de 7, 15 e 30 dias os animais foram mortos e suas hemimaxilas removidas para a análise histológica do comportamento desses materiais. Os escores obtidos foram submetidos ao teste de Kruskal - Wallis ($p < 0,05$). Nenhuma diferença significativa foi observada entre os materiais e os resultados mostraram que ambos possuem a mesma resposta biológica.

SUMER et al.¹⁴³ em 2006 analisaram microscopicamente a biocompatibilidade do amálgama, IRM, MTA e MTA acrescido de clorexidina. Para este estudo foram usados tubos preenchidos com os materiais implantados em tecido subcutâneo de ratos. Os animais foram mortos com 15, 30 e 60 dias após os procedimentos. Os locais dos implantes removidos para a avaliação microscópica. A reação inflamatória foi categorizada como fraca, moderada e severa. A espessura da cápsula foi medida em 5 diferentes pontos onde receberam escores. Amalgama, IRM e MTA com clorexidina apresentaram uma reação inflamatória fraca no período de 15, 30 e

60 dias. O MTA provocou uma severa inflamação inicial que foi diminuindo nos períodos de 30 e 60 dias. Uma clara formação de fibra colágena foi observada em todos os grupos já a partir de 15 dias. O MTA com clorexidina, MTA, IRM, amálgama se mostraram com tecido conjuntivo indicando sua boa tolerabilidade pelo tecido. O MTA com clorexidina se mostrou biocompatível.

Al-HEZAIMI et al.¹ em 2006, estudaram os efeitos do MTA cinza e branco contra os *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus sanguis* com a utilização do teste de diluição no tubo. Foram preparados caldos dos tubos e divididos nos grupos experimentais e no grupo controle. Aliquotas de cada microorganismo testado foram selecionadas e adicionadas aos grupos. Todos os grupos foram incubados por 0, 1, 24, 48 e 72 horas. Uma correlação direta de concentração entre o MTA branco e o MTA cinza foi encontrada quanto aos seus efeitos antibacterianos. Os resultados mostraram que a suscetibilidade do *E faecalis* e *S sanguis* para o MTA são diferentes e que uma menor concentração do MTA cinza foi necessária para manifestar o mesmo efeito antibacteriano em cada um dos organismos testados.

GANCEDO-CARAVIA; GARCIA-BARBERO⁵⁴, em 2006 estudaram quanto um ambiente úmido pode afetar as características de retenção do MTA e também determinar o tempo necessário para a presa. Obturações com MTA foram executadas em pedaços de dentina perfuradas e tomaram presa na presença ou ausência de umidade em vários intervalos. As obturações foram então submetidas a uma força até que elas fossem deslocadas das perfurações. A presença de umidade aumentou a resistência à expulsão da obturação de MTA. O efeito do tempo de presa dependeu da umidade: enquanto na falta de umidade a força de resistência não aumentou depois de 3 dias, na presença de umidade prolongou o tempo de presa para 21 dias e produziu um incremento moderado de força acima do grande aumento inicial obtido nos 3 primeiros dias.

AL-RABEAH; PERINPANAYAGAM; MACFARLAND² em 2006, levando em consideração que a resposta celular ao MTA é importante para o reparo dos tecidos periapicais, estudaram o comportamento de células ósseas do rebordo alveolar ao MTA. Fragmentos de osso alveolar humano foram obtidos por cirurgia oral. Células foram semeadas sobre o ProRoot MTA

branco e cinza e MTA preparado com solução anestésica. Microscópio de varredura mostrou que as células estavam aderidas e espalhadas sobre o MTA com 24 horas e que proliferaram para formar uma camada de matriz em 7 dias. Células aderidas e interação célula-superfície com o MTA branco e cinza e com o MTA com anestésico foram comparavelmente propagados por 14 dias. O osso alveolar humano provê um relevante modelo clínico para demonstrar que ambos os MTA cinza e branco auxiliaram a adesão celular, proliferação e formação de matriz.

SILVA et al.¹³⁶ em 2006 levando em consideração que o dano ao DNA é um importante caminho para a carcinogênese avaliaram se o MTA cinza ou o branco são capazes de induzir um dano genético em células humanas primárias. Linfócitos periféricos foram obtidos de 10 voluntários saudáveis que foram expostos as duas formas de MTA com concentrações finais variando de 1 a 1000 microg/ml por uma hora por 37 °C. O controle positivo foi tratado com peróxido de hidrogênio por 5 minutos. Os resultados foram avaliados pelo teste não paramétrico de Friedman. Os resultados mostraram que o MTA branco ou cinza, em todas as concentrações estudadas, não induziram quebra do DNA de linfócitos periféricos humanos. Como conclusão os resultados mostram que a exposição ao MTA não pode ser um fator de aumento de lesões, ao nível de DNA, de linfócitos humanos periféricos.

PRADHAN et al.¹²³ em 2006, compararam o MTA e o Hidróxido de cálcio quanto ao tempo de formação da barreira biológica mineralizada apical e o reparo de lesões periapicais em dentes com ápice incompleto. Foram utilizados 20 incisivos superiores necrosados com ápices incompletos colocados em grupos dependendo do tamanho da lesão periapical e estágio de desenvolvimento da raiz; foram igualmente divididos em hidróxido de cálcio e MTA. No grupo tratado com MTA os dentes permaneceram com hidróxido de cálcio por 7 dias e então foi feito um plug apical com MTA e obturado com guta-percha. O grupo 2 foi tratado somente com hidróxido de cálcio. Como resultado obtiveram que os dois materiais foram igualmente eficazes no tratamento de dentes com ápice incompleto. O tempo para a formação da barreira mineralizada foi significativamente menor no grupo do MTA e o tempo de reparo das lesões periapicais foram quase idênticas.

SHAHI et al.¹³³ em 2006, compararam a biocompatibilidade do amálgama, MTA cinza e o MTA branco em tecido conjuntivo de 45 ratos. Os materiais retrobturadores preencheram tubos de polietileno e foram inseridos no tecido conjuntivo dos animais, os quais foram mortos após 3 dias, 1 e 3 semanas respectivamente. Os resultados mostraram que, após 3 dias, o MTA branco se comportou mais biocompatível do que o cinza. Após uma semana o MTA cinza se comportou melhor do que o branco e o amálgama. Concluíram que após 3 semanas não houve diferença entre os materiais testados.

IWAMOTO et al.⁷⁴ em 2006 realizaram uma avaliação clínica, radiográfica e histológica em terceiros molares com exposição pulpar capeadas com MTA ProRoot branco. Foram empregados 48 terceiros molares livres de cáries ou com cáries incipientes indicados para extração. O grupo I recebeu MTA branco e o grupo II, controle, recebeu hidróxido de cálcio - Dycal. Após a aplicação dos dois materiais as cavidades foram restauradas com resina composta. As avaliações foram feitas por telefone aos 7 dias, e clinicamente aos 30 e 120 dias. As raízes foram cortadas com aproximadamente 4 a 5 mm do ápice, fixadas em formalina a 10 % e processadas para a rotina histológica. Foi usada a coloração com Hematoxilina e Eosina para a avaliação histológica e Brown & Brenn para o reconhecimento de bactérias. Nenhuma diferença estatística foi observada entre os materiais quanto à sensibilidade pós-operatória para o período de 7 dias. Aos 30 dias não houve diferença entre os grupos. Quarenta e cinco dentes dos quarenta e oito dentes tratados foram avaliados microscopicamente (22 com MTA branco e 23 com hidróxido de cálcio). Foi observada a formação de ponte mineralizada em 20 dentes tratados com MTA e em 18 dos tratados com hidróxido de cálcio. Nenhuma diferença estatística foi encontrada para a resposta inflamatória, presença da ponte de dentina, ou vitalidade pulpar entre o MTA Branco e o hidróxido de cálcio. O que foi significativamente diferente foi o diâmetro da exposição pulpar maior para o MTA branco que do hidróxido de cálcio.

MELEGARI; BOTERO; HOLLAND⁹⁴ em 2006, determinaram se cimentos endodônticos comumente utilizados podem induzir ou incrementar a produção de prostaglandinas E2 quando em contato com células encontradas nos tecidos periapicais. Misturas recém preparadas de Roth 801, Sealapex e o MTA ProRoot foram colocadas em contato com cultura de fibroblastos e macrófagos por 24 horas. Foi contabilizada a viabilidade celular. Como controle as células foram colocadas em cultura com lipopolissacarídeo. Como

resultados observaram que os três materiais estudados não estimularam o aumento de liberação de prostaglandina E2. No grupo controle o polissacarídeo aumentou a liberação de prostaglandina para macrófagos, porém não para fibroblastos. Na contagem sobre viabilidade celular o Roth 801 causou algumas mortes em fibroblastos e macrófagos; o Sealapex mostrou morte celular somente em cultura de macrófagos. O MTA não apresentou diferença estatística na morte celular para nenhuma das culturas. Concluíram que em 24 horas não houve aumento da produção ou a liberação de prostaglandina E2 por macrófagos ou fibroblastos gengivais.

CASELLA; FERLITO²² em 2006, estudaram o uso do MTA na endodontia. Relataram que ele é composto basicamente por silicato tricálcico, aluminato tricálcico e óxido de bismuto, em forma de finas partículas hidrofílicas que endurecem na presença de umidade ou sangue. Possui biocompatibilidade, é radiopaco e é difícil de ser infiltrado quando comparados com materiais clássicos usados como retrobturadores, tais como: amálgama, cimentos SuperEBA e IRM. Apresenta um tempo de trabalho de 5 minutos e toma presa entre 2 horas e quarenta e cinco minutos a 4 horas dependendo da densidade do ar que entra no momento da espatulação e da umidade do local receptor. O longo tempo de endurecimento reduz a tensão interna e a incidência de infiltração marginal. Mas sua característica de presa faz que o dente seja obturado em outra sessão com intervalo de pelo menos 3 dias da aplicação do MTA. Experiência clínica mostrou que o MTA é o material de escolha não somente em cirurgia parendodôntica, apicetomia, obturação retrógrada, mas também selando perfurações de câmara pulpar e radiculares, reabsorção interna. Tem sido usado também com sucesso em capeamentos pulpaes e apecificação ao invés do hidróxido de cálcio deixando a terapia mais rápida e mais afirmável.

SIMON et al.¹³⁷ em 2007, avaliaram o resultado da apecificação usando o MTA. Os 57 dentes com ápices abertos de 50 pacientes que necessitavam de tratamento endodôntico receberam o procedimento de apecificação com o MTA em uma única consulta. Os pacientes foram chamados após 6, 12 meses a cada ano subsequente. Onde dois avaliadores padronizados analisaram as radiografias, pré-operatórias, pós-operatórias e as de controle. Cada ápice visível na radiografia recebeu um escore; o tamanho da lesão foi medido e a formação de ponte mineralizada também foi anotada. Os 43 casos que voltaram e foram incluídos nos resultados tinham pelo menos um ano de preservação. Considerando a diminuição do tamanho da lesão apical o reparo aconteceu em 81 % dos casos. A apecificação em uma sessão utilizando tampão

de MTA pode ser considerada como um tratamento adequado e pode ser uma alternativa ao uso do hidróxido de cálcio.

2.3 Sobre MTA e suas comparações com o cimento Portland

A origem e composição química do MTA sempre despertaram a curiosidade daqueles que se interessavam pelo material, e estas informações eram omitidas nos trabalhos experimentais e nas bulas originais.

Essa possibilidade começou a ser esclarecida em 1999, quando **WUCHERPFENNIG; GREEN**¹⁶⁶ publicaram um *abstract* chamando a atenção ao afirmar que o MTA tinha características e propriedades semelhantes ao cimento Portland, disponível para a construção civil. Segundo os autores, ambos são constituídos principalmente por cálcio, fosfato e sílica. Os dois materiais foram idênticos na análise macroscópica, microscópica e pela difração de raios X e quando misturados com água, endurecem, sendo levados a uma fase sólida. Observaram ainda a biocompatibilidade do MTA e cimento Portland em cultura de células osteoblasto-like (MG-63). Em 4 e 6 semanas, ambos os materiais permitiram a formação de uma matriz mineralizada de maneira similar. Em outro trabalho, *in vivo*, colocaram o MTA e cimento Portland como capeadores pulparem diretos, após exposição da polpa em ratos adultos. Os animais foram sacrificados após uma, duas, três e quatro semanas e seus dentes, processados histologicamente. Os resultados mostraram um efeito similar sobre as células pulparem e também deposição de dentina reparadora, em alguns casos, nas primeiras duas semanas após os procedimentos. As observações preliminares indicaram que o cimento Portland pode ser um material selador ideal, tanto quanto o MTA.

Um ano depois, **ESTRELA et al.**⁴⁵ (2000) investigaram a composição química e a capacidade antimicrobiana do MTA, cimento Portland, pasta de Ca(OH)_2 , Sealapex® e Dycal®. Quatro tipos de cepas bacterianas provenientes da ATCC (American Type Culture Collection) foram utilizadas: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis*. Um tipo de fungo também foi empregado neste estudo: a *Cândida albicans*, proveniente da USP – SP. Inicialmente realizou-se o teste de difusão e inibição em ágar. Os resultados mostraram que apenas o Ca(OH)_2 promoveu halos de inibição de 6 a 9,5mm. Já os demais cimentos testados, com exceção do Dycal, promoveram apenas halos de difusão. O

Dycal não apresentou halos de difusão ou inibição. Em seguida, utilizando-se da espectrofotometria de fluorescência, analisou-se a composição química dos elementos presentes no MTA e em duas amostras do cimento Portland. Os autores concluíram que os elementos químicos presentes no MTA são os mesmos do cimento Portland, com a exceção do Bismuto presente somente no MTA, sendo talvez o responsável pela sua radiopacidade. Segundo os autores o cimento Portland é composto de: CaO(58,5%), SiO₂(17,7%), Al₂O₃(4,5%), MgO(3,3%), SO₃(3,0%), Fe₂O₃(2,9%), K₂O(0,9%) e Na₂O(0,2%). Apesar da semelhança com o MTA o cimento Portland pode conter impurezas que podem afetar tanto a sua cristalização como provocar algum tipo de reação. Isto depende também de onde foi extraído o mineral. Concluíram finalmente que as semelhanças de composição química entre MTA e cimento Portland justificam os resultados obtidos neste estudo, onde ambos apresentaram praticamente a mesma atividade antimicrobiana.

Os efeitos do MTA e cimento Portland na secreção de PGE₂ por monócitos foram avaliados por **SAFAVI; NICHOLS**¹²⁹, em 2000. Os autores utilizaram monócitos provenientes de sangue fracionado e incubados a 37°C e na presença de 5% CO₂ por 2h. Em seguida procedeu-se nova incubação agora contendo os materiais por 24h. Os níveis de prostaglandina (PGE₂) foram mensurados. Foi utilizado como controle positivo o LPS (*S. typhimurium*). Os resultados mostraram diminuição da produção de PGE₂ em contato com os materiais. Os autores concluíram que tanto o MTA como o cimento Portland possuem semelhante efeito inibitório da formação de prostaglandina pelos monócitos, e isso se deve à solubilidade de alguns produtos contidos nesses materiais.

HOLLAND et al.⁶⁵, em 2001, analisaram a reação do tecido subcutâneo de ratos frente à implantação de tubos de dentina preenchidos com MTA, cimento Portland ou hidróxido de cálcio. Tubos de dentina com 7 mm de comprimento e 0,5 mm de espessura foram preparados de raízes de dentes humanos. Depois de esterilizados foram obturados com os cimentos e implantados na região dorsal de 30 ratos, um de cada lado da linha mediana. Tubos de dentina vazios foram implantados em mais 10 ratos e serviram de controle. Os animais foram mortos após sete e 30 dias e os espécimes, não descalcificados, foram preparados para análise microscópica com luz polarizada e técnica de Von Kossa para tecidos mineralizados, sendo que alguns cortes foram descalcificados por 10 minutos em EDTA e corados por H.E.. Houve inflamação crônica moderada em todos os espécimes tanto aos sete como aos 30 dias. Os

resultados foram similares para os 3 materiais estudados. Perto das embocaduras dos tubos foram observadas granulações Von Kossa positivas, birrefringentes à luz polarizada, e junto a elas um tecido irregular na forma de ponte, e também túbulos, formando uma camada em diferentes profundidades. Os autores concluíram que o óxido de cálcio contido no MTA e possivelmente no cimento Portland seja o responsável pela formação destas granulações, reação esta que também ocorre com o Ca(OH)_2 , levando-os a crer que o mecanismo da indução de tecido mineralizado do MTA e do cimento Portland possivelmente seja o mesmo do Ca(OH)_2 .

HOLLAND et al.⁶⁶, em 2001, analisaram o processo de reparo dos tecidos periapicais de dentes de cães após pulpectomia e obturação dos canais com MTA e cimento Portland. Para o estudo, dez pré-molares foram instrumentados pela técnica mista invertida, receberam curativo de demora de uma associação de corticosteróide e antibiótico por 7 dias, e depois obturados com cones de guta-percha mais MTA ou cimento Portland. Noventa dias após a obturação os animais foram mortos e as peças removidas. Os resultados foram semelhantes para os dois cimentos, houve a formação de barreira mineralizada completa e ausência de inflamação na maioria dos casos. Os autores concluíram que o reparo dos tecidos periapicais de dentes de cães é semelhante com ambos os materiais estudados, quando empregados na obturação de canais radiculares.

SILVA et al.¹³⁵, em 2002, avaliaram o comportamento do cimento ProRoot MTA, em relação ao cimento Portland (Votoram), quanto à estabilidade dimensional e solubilidade/desintegração, com base na especificação número 57 da Associação Dental Americana (ADA). Para a estabilidade dimensional, confeccionaram corpos de prova cilíndricos, com dimensões de 12 mm de altura por 6 mm de diâmetro, que, após mensuração de seus comprimentos com um paquímetro digital, foram imersos em 30 ml de água destilada por 30 dias. Para solubilidade/desintegração, os corpos de prova utilizados tinham 1,5 mm de espessura e 20 mm de diâmetro, os quais depois de pesados foram imersos em 50 ml de água destilada por 7 dias. Os resultados para a estabilidade dimensional foram: ProRoot MTA +0,12 e cimento Portland +0,95; para solubilidade/ desintegração ProRoot MTA -7,19 e cimento Portland -7,76. Em relação à estabilidade dimensional, os dois cimentos encontraram-se dentro das normas da ADA e quanto à solubilidade/desintegração, ambos apresentaram valores acima do determinado pela ADA.

GUARIENTI; OSINAGA; FIGUEIREDO⁵⁹, em 2002, analisaram por meio de microscópio eletrônico de varredura XL-20 (Philips) e sonda EDX (Energy Dispersive X-Ray), a microestrutura superficial e a composição química do MTA e de duas marcas comerciais de cimento Portland. Após manipulação dos cimentos e inserção em moldes, os corpos de prova foram armazenados ao abrigo da luz por 38 dias, quando então foram removidos e submetidos ao exame. Os resultados mostraram que a superfície dos corpos de prova dos cimentos possui a mesma estrutura microscópica, com exceção do bismuto. Os principais constituintes do MTA foram encontrados em ambas as marcas de cimento Portland, com pequenas diferenças nas suas quantidades, sendo que nas amostras de cimento Portland se observou molibdênio.

A reação tecidual do MTA (ProRoot®) e cimento Portland quando implantados em tecido ósseo foi investigada por **SAIDON et al.¹³¹**, em 2002. Utilizaram 30 porquinhos da Índia que após anestesia e exposição cirúrgica da mandíbula, cavidades bilaterais foram preparadas para implantação de tubos de politetrafluoretileno preenchidos com os materiais recém manipulados. Cada animal recebeu dois implantes, um de MTA (ProRoot®) e outro de cimento Portland pré-esterilizado em óxido de etileno, perfazendo 56 implantes. Os animais foram mortos após os períodos de 2 e 12 semanas, e as peças, contendo os implantes, removidas e preparadas para análise microscópica. Os resultados mostraram que houve mínima resposta inflamatória tanto para o MTA quanto para o cimento Portland em ambos os períodos experimentais. Os autores concluíram que o MTA e o cimento Portland foram, de forma semelhante, bem tolerados pelos tecidos ósseos.

DEAL et al.³³ (2002) compararam as propriedades químicas e físicas do MTA, cimento Portland e de um novo material experimental, o MTA de presa rápida. Foi utilizada espectroscopia de energia dispersa para análise química. O tempo de presa foi avaliado segundo as normas da especificação nº 96 ANSI/ADA. Os elementos químicos encontrados foram os mesmos para o ProRoot®, cimento Portland e MTA de presa rápida, inclusive na presença do bismuto em uma proporção de 20,1% para o ProRoot®, 17,3% para o cimento Portland e 15,5% para o MTA de presa rápida. Imediatamente após a manipulação o pH foi de 11,72 para o ProRoot®, 11,74 para o cimento Portland e 11,69 para o MTA de presa rápida. O tempo de presa foi de 156 minutos para o ProRoot®, 159 minutos para o cimento Portland e 17 minutos

para o MTA de presa rápida. Os autores concluíram que o MTA de presa rápida apresentou propriedades químicas semelhantes ao ProRoot® e cimento Portland, porém com tempo de presa significativamente mais rápido.

FUNTEAS; WALLACE; FOCHTMAN⁵³, em 2002, realizaram uma análise comparativa dos elementos químicos do cimento Portland e do MTA, utilizando um espectrômetro por indutibilidade de plasma acoplado (ICP-ES). A análise revelou que 14 elementos químicos eram os mesmos para ambos os cimentos, não apresentando significativa diferença quantitativa, com exceção do bismuto, que não pode ser quantificado no cimento Portland. Já os demais elementos químicos foram quantificados e mostraram muitas semelhanças entre ProRoot® e cimento Portland.

A possibilidade de contaminação no MTA-Angelus® (cinza e branco) sem estarem esterilizados, e no cimento Portland (Votoran, Votorantim, São Paulo, Brasil), de um saco recém-aberto e de um aberto há dois meses foi avaliada por **DUARTE et al.³⁹** em 2002. As amostras foram inoculadas assepticamente em 3 ml de caldo BHI e incubadas a 37°C por 24 horas e em 3 ml de caldo de Sabouraud, acrescido de cloranfenicol, e incubadas a 25°C por 72 horas. Após a incubação, os tubos foram homogeneizados e as amostras plaquetadas em meios específicos para o crescimento de Gram+, Gram-, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus* e fungos. As placas com meio específico para bactérias foram incubadas a 37°C por 24 horas e as com meio específico para fungos foram mantidas a 25°C por 15 dias. Diante da metodologia empregada e da análise dos resultados, os autores concluíram que os materiais testados não apresentam contaminação.

MENEZES⁹⁶ em 2004, analisou o comportamento da polpa dentária de dentes de cães após pulpotomia e proteção com o MTA Ângelus, ProRoot MTA, cimento Portland e cimento Portland branco. Foram utilizados 76 dentes, os quais após 120 dias do experimento foram removidos e preparados para análise microscópica para verificação do reparo do complexo dentino-pulpar. Os resultados mostraram que o ProRoot MTA, MTA Ângelus, cimento Portland e cimento Portland branco foram semelhantes entre si, permitindo a neoformação de tecido mineralizado e a manutenção da vitalidade do tecido conjuntivo pulpar subjacente.

BERNABÉ; HOLLAND¹⁰ (2003), salientaram que, recentemente, o fabricante do ProRoot MTA modificou algumas informações contidas no MSDS (Material Safety Data Sheet) original, acrescentando que o material é composto por 75% de cimento Portland, 20% de óxido de bismuto e 5% de sulfato de cálcio di-hidratado. Portanto o próprio fabricante do MTA admitiu a presença do cimento Portland na composição do produto. Assim, o estudo das propriedades do MTA ficou facilitado pelo conhecimento já adquirido, sedimentado e difundido a respeito do cimento da construção civil. Isto motivou os pesquisadores a realizar uma série de trabalhos comparando os dois cimentos.

SAIDON et al.¹³⁰, em 2003, compararam o efeito citotóxico, *in vitro*, em cultura de células L929 e *in vivo* a reação do tecido ósseo de cobaias, após implantação de ProRoot MTA e cimento Portland. Para o estudo, *in vitro*, os materiais em teste foram colocados imediatamente após a mistura e a presa. Foram incubados por 3 dias e observaram a morfologia e a contagem das células. Para o estudo *in vivo* realizaram 2 cavidades ósseas nas mandíbulas de 28 cobaias e implantaram recipientes de teflon preenchidos com os materiais recentemente misturados no interior das cavidades ósseas. Os animais receberam um implante de ProRoot MTA e um de cimento Portland e foram mortos depois de 2 e 12 semanas. Não existiu diferença nas reações celulares, *in vitro*, e em períodos experimentais foi observado tecido ósseo saudável e mínima resposta inflamatória adjacente aos implantes de ProRoot MTA e cimento Portland. Como ambos os materiais foram bem tolerados, *in vitro* e *in vivo*, os autores concluíram que o cimento Portland tem o potencial de ser usado como um material de retrobturação mais barato.

CHAKMAKCHI et al.²⁴, em 2003, compararam a capacidade de selamento de dois tipos de MTA (cinza e branco) e um tipo comum de cimento Portland, para o tratamento de perfurações de furca. Foram utilizados 34 molares humanos extraídos. As raízes foram cobertas por esmalte de unhas e a perfuração foi realizada no centro do assoalho, com broca esférica número 4. Os dentes foram imersos até a junção amelocementária, em uma esponja umedecida com água destilada e as perfurações, seladas com os materiais em teste. As aberturas coronárias foram seladas com IRM e cobertas pelo esmalte de unhas e os dentes, deixados na esponja umedecida por um mês, e depois foram imersos, por 48 horas, em fucsina básica a 1%. Os espécimes foram analisados pelo microscópio e os resultados mostraram diferença significativa entre os grupos do MTA branco e cimento Portland, mas não houve diferença entre os grupos do

MTA branco e MTA cinza. Tanto o MTA branco como o MTA cinza (ProRoot MTA) selaram perfeitamente as perfurações e foram significativamente melhores do que o cimento Portland.

CAMPOS QUINTANA; LLAMOSAS HERNÁNDEZ; MORALES DE LA LUZ²⁰, (2003) avaliaram a biocompatibilidade do cimento Portland quando implantado no tecido conjuntivo de ratos. Tubos de polietileno de 4 mm de comprimento, desinfetados em glutaraldeído a 2% e lavados em soro fisiológico, foram preenchidos com o material e implantados nos ratos. Cada rato recebeu dois implantes, um com cimento Portland e outro vazio, que serviu de controle, colocados um de cada lado da linha mediana, no dorso do animal. Os animais foram mortos 8, 15, 30 e 45 dias após cirurgia, e a seguir as peças contendo o tubo e tecidos adjacentes foram preparados para análise microscópica. Os resultados mostraram não haver diferença entre o grupo controle e o grupo experimental, ambos apresentaram infiltrado inflamatório similar, onde aos 8 dias foi notória a presença de polimorfonucleares e expansão da matriz celular, devido ao edema, sendo que aos 15, 30 e 45 dias o infiltrado inflamatório caracterizou-se, principalmente, pela presença de macrófagos e células linfóides. Deve-se destacar, nesses períodos, a presença de células sebáceas e eosinófilos que aumentaram em número com o passar do tempo. Segundo os autores, isto parece indicar uma reação do tipo alérgica aos tubos implantados. Concluíram que o cimento Portland não provocou reação adversa à distância no tecido subcutâneo dos ratos; que o tubo de polietileno causou reação alérgica, mas que pode ter sido encoberta pela biocompatibilidade do cimento. Os resultados deste e de outros estudos parecem indicar a utilização do cimento Portland no tratamento de complicações endodônticas.

Diversos materiais têm sido utilizados para selar as perfurações e atualmente o Agregado Trióxido Mineral (MTA) vem obtendo bons resultados. Devido à semelhança desse material com o cimento Portland e a utilização de aditivos da construção civil, feitos a base de cloreto de cálcio, **JUÁREZ BROON⁷⁵** avaliou a resposta dos tecidos periodontais de dentes de cães, de perfurações seladas com o ProRoot MTA, MTA-Angelus e cimento Portland branco, aos quais se adicionou ou não o cloreto de cálcio a 10%. Fizeram parte da pesquisa 4 cães, dos quais foram utilizados 36 dentes (prémolares superiores e inferiores), perfurados com broca STP 58 (2,15 mm X 0,585 mm), em baixa rotação, no terço cervical da raiz mesial, em direção à furca. As perfurações foram seladas imediatamente com os materiais em teste. Após 90 dias, os animais foram sacrificados por perfusão e as peças, processadas para análise microscópica. Os resultados mostraram neoformação de tecido mineralizado, fechando total ou parcialmente as

perfurações, porém, com inflamação, especialmente nos dentes onde houve extravasamento de material selador. O teste estatístico de Kruskal-Wallis demonstrou não haver diferença estatisticamente significativa entre os materiais testados ($p>0,05$). Todos os materiais com e sem cloreto de cálcio, mostraram resposta favorável, criando condições biológicas que favoreceram o reparo no local da perfuração.

DUARTE et al.⁴¹ em 2005, analisaram a liberação de arsênico em duas marcas comerciais de MTA, duas marcas de cimento Portland cinza e uma marca de cimento Portland branco. Esta preocupação surgiu do conhecido efeito carcinogênico, das alterações das funções enzimáticas celulares, redução da produção de energia e conseqüentes danos celulares e teciduais. Os materiais foram manipulados e colocados em tubos plásticos e estes imersos em frascos de vidro contendo água e um reagente. A presença de Arsênico foi analisada no período entre 3 a 168 horas de imersão através da espectrofotometria de absorção atômica. Os níveis de arsênico liberados foram similares entre os MTAs e os cimentos Portland e estão bem abaixo dos níveis considerados nocivos. Concluíram que os cimentos são seguros para o uso na prática clínica em termos de presença de arsênico.

BORTOLUZZI¹⁴ em 2005, avaliou microscopicamente a resposta tecidual de subcutâneo de ratos frente à implantação de tubos de polietileno contendo novas formulações de MTA. Os materiais testados foram MTA ProRoot, MTA Branco contendo dois tipos radiopacificadores e cimento portland branco acrescido de óxido de bismuto. Foram avaliados 36 animais os quais receberam 4 implantes com os materiais a serem testados e os lados controles foram preenchidos com guta-percha. Após 15, 30, e 60 dias os animais foram mortos e os espécimes preparados para a análise microscópica. Os resultados mostraram inflamação crônica granulomatosa variando de moderada a discreta, e organização e espessamento de uma cápsula fibrosa com o passar do tempo. Os cimentos induziram numa resposta tecidual semelhante mesmo com diferentes radiopacificadores em sua composição.

CAMILLERI et al.¹⁹ em 2005, avaliaram a biocompatibilidade do MTA e do cimento Portland com acelerador quanto a função metabólica celular e sua proliferação. A constituição química do cimento Portland branco e cinza, MTA branco e cinza e o cimento Portland com

acelerador, com a exclusão do gesso no seu processo de fabricação, foi determinada com a análise da energia dispersiva de raios X e análise de difração de raios X. A biocompatibilidade foi testada usando um método quantitativo de proliferação celular e um teste indireto para avaliar o crescimento celular. A constituição química dos materiais foi similar e os estudos indiretos mostraram um aumento da atividade celular após 24 horas com o controle. Células em contato direto com os cimentos apresentaram viabilidades em todos os pontos estudados. Os testes de biocompatibilidade dos cimentos mostraram a ausência de substâncias tóxicas para o MTA cinza e branco, e que a adição de óxido de bismuto no cimento Portland com acelerador não interferiu na biocompatibilidade. O novo cimento Portland acelerado mostrou resultados similares. O crescimento celular foi pobre quando em contato direto com os cimentos. Entretanto, a produção de hidróxido de cálcio durante a reação de hidratação mostrou indução de proliferação celular.

RIBEIRO et al.¹²⁷ em 2006, analisaram a genotoxicidade e citotoxicidade do MTA e cimento Portland com teste, *in vitro*. Células de ovários de ratas chinesas foram expostas ao MTA, cimentos Portland branco e cinza. Todos os compostos estudados não apresentaram efeitos de genotoxicidade como alterações no DNA, mutações, capacidade de reparo, quebras cromossomais em todas as concentrações utilizadas. Nenhuma diferença estatística foi observada na citotoxicidade dos compostos estudados. O MTA e o cimento Portland não são genotóxicos e não induziram morte celular.

ISLAN; CHNG; YAP⁷³ em 2006, compararam os maiores constituintes do ProRoot cinza, ProRoot branco, cimento Portland cinza e branco através da difractometria de raios X. Concluíram que os maiores constituintes são silicatotricálcico, aluminato tricálcico, silicato de cálcio, aluminoférrico tetracálcico nos quatros cimentos, e óxido de bismuto no ProRoot MTA cinza e branco. Os quatro cimentos apresentaram a maioria dos constituintes similares. Os cimentos Portland podem ser utilizados para maiores desenvolvimentos ou modificações no ProRoot MTA. Pode ainda, melhorar características físicas e expandir as aplicações clínicas, já que detalhes do cimento Portland foi conhecido e estudado anteriormente ao MTA.

BORTOLUZZI et al.¹³ em 2006, estudaram a influência da adição de cloreto de cálcio a 10 % no pH e na liberação de íons do ProRoot MTA, MTA branco e cimento Portland branco. Estimaram os valores iniciais de liberação de íons e o pH. Utilizaram um pHmetro e espectrofotômetro. De acordo com o teste T Student a adição de cloreto de cálcio aumentou o pH embora os resultados tenham sido parecidos em outros períodos. Os que foram acrescidos com cloreto de cálcio liberaram mais íons cálcio do que os puros no período de 24 horas. Os resultados revelaram que houve um aumento nas propriedades físico-químicas desses materiais. Os materiais com cloreto de cálcio foram mais fáceis de manusear e necessitam de menor quantidade de água no seu processo de manipulação.

SONG et al.¹⁴⁰ no ano de 2006, realizaram uma análise química do cimento Portland, ProRoot MTA cinza, ProRoot MTA branco e o MTA – Ângelus cinza. A composição química de suas estruturas cristalinas foram estudadas através da difração de raios X que foi usado para identificar e caracterizar as fases. Um espectrômetro de energia dispersiva de raios X foi usado para determinar a composição química dos materiais testados. A forma em pó tanto quanto já tomada presa foram estudadas. Como resultados obtiveram que a estrutura cristalina e a composição química do MTA cinza e branco foram muito parecidas exceto pela presença de ferro no cinza. Ambos são compostos por óxido de bismuto e óxido de silicato de cálcio. O cimento Portland foi constituído basicamente por óxido silicato de cálcio e não contém óxido de bismuto. O MTA cinza da Ângelus possui uma quantidade um pouco menor de óxido de bismuto do que o MTA ProRoot. Não existem diferenças significantes nas estruturas cristalinas e composição química entre os pós e os cimentos já preparados para qualquer material estudado. Como conclusão obtiveram que o Cimento Portland difere do MTA porque não apresenta íons bismuto e apresenta íons potássio. O MTA cinza contém uma quantidade significativa de ferro ao contrário do MTA branco e o MTA da Angelus possui menor quantidade de óxido de bismuto do que o MTA ProRoot.

MORAIS et al.¹⁰² em 2006, avaliaram a biocompatibilidade do cimento Portland com a adição de 20 % de iodoformio e o MTA ProRoot. Foram usados 18 ratos albinos Wistar divididos em 3 grupos de 6 animais cada. Tubos de polietileno foram preenchidos com os materiais e colocados no subcutâneo desses animais. Tubos vazios serviram como controle. Após o período de 7, 30 e 60 dias os animais foram mortos. Foram avaliadas a presença da

cápsula fibrosa e sua espessura, presença de tecido de granulação e a severidade da resposta inflamatória. Não houve diferença estatística entre os materiais no período de 7, 30 e 60 dias. Após 60 dias cápsula fibrosa apresentou-se mais organizada no cimento Portland do que no MTA. Após 60 dias ainda havia um aumento da reação tecidual nos dois grupos comparados ao grupo onde os tubos permaneceram vazios.

DE DEUS et al.³⁵ em 2006 compararam a capacidade do cimento Portland e do MTA em prevenir a infiltração coronal através de perfurações de furca seladas com esses cimentos. Perfurações foram feitas no assoalho da câmara pulpar de 36 molares inferiores utilizando broca esférica numero 3. No grupo I foi utilizado o MTA e no grupo II o cimento Portland. Cada dente foi inserido num tubo de silicone (reservatório bacteriano) com saliva humana e incubado. A checagem diária de turbidez foi realizada por 50 dias. Nesse período 53% dos dentes foi contaminado no grupo do MTA e 60% no grupo do cimento Portland. Como conclusão obtiveram que não houve diferença estatística entre os grupos e que o tanto o cimento Portland como o MTA demonstraram semelhantes capacidades em selar perfurações de furca.

COOMARASWAMY; LUMLEY; HOFMANN²⁹ em 2007, analisaram os efeitos da adição de oxido de bismuto nas propriedades do cimento Portland. A adição de óxido de bismuto de 0 a 10% em peso do material resultou numa diminuição na dureza e na resistência à força de 82 para 40 MPa e decresceu gradualmente para 29 MPa quando a proporção foi de 40 % do peso. O óxido de bismuto aumentou a porosidade do material de 15 para 31 %. Foram encontrados defeitos de tamanho crítico que alteraram drasticamente com a adição de óxido de bismuto. Esse constante aumento de porosidade pode afetar a longevidade do material nesse modelo endodôntico. O cimento Portland pode também ser comparado na composição e na força ao MTA comercial, porém, tinha menor porosidade devido a melhor trabalhabilidade dos componentes do cimento portland.

Num estudo recentemente realizado por **ORTIZ-OROPEZA**¹¹⁴ em 2007, comparou o comportamento biológico do Endo-CPM-Sealer com o clínquer do cimento portland cinza acrescido de 2 e 5% de sulfato de cálcio em subcutâneo de ratos. Também foi avaliado o tempo de presa desses materiais. Foram utilizados 24 ratos divididos em e três períodos experimentais de 15, 30 e 60 dias. Cada animal recebeu 4 implantes de tubo de polietileno contendo os

materiais e selados em uma extremidade com guta-percha que serviu como grupo controle. Após os períodos transcorridos os animais foram mortos e os tecidos preparados para a análise microscópica. Os resultados mostraram que o Endo-CPM-Sealer produziu maiores índices inflamatórios com significância apenas para o período de 15 dias. O clínquer do cimento portland foi o que produziu a menor resposta inflamatória em todos os períodos. E todos os materiais testados não produziram diferença estatística no período de 60 dias. Com relação ao tempo de presa inicial o clínquer puro apresentou o menor valor (5 min) e o menor tempo de presa final foi dado pelo Endo-CPM-Sealer.

2.4 Sobre o CPM

CASTRO²³ em 2003 relatou que o CPM é um cimento Portland Modificado, com tempo de presa diminuído, de cor branca e com características especiais de: plasticidade, aderência, tamanho das partículas, superfície específica, pH, tolerância biológica, histocompatibilidade, estimulação osteogênica e escoamento. O CPM está indicado para obturações de cavidades dentárias, naturais, cirúrgicas, iatrogênicas ou císticas, bem como preenchimento de defeitos ósseos. Em casos de grandes reabsorções radiculares e periapicais, têm-se utilizado preenchedores à base de hidróxido de cálcio. Porém, estes possuem a desvantagem de sofrer dispersão, reabsorção, possui uma grande atividade de necrose superficial, são temporários. Não são radiopacos, o que dificulta a visualização radiográfica, não produzem o efeito hermético, selamento e tridimensionalidade e apresentam baixo escoamento. Entretanto, a quantidade de cálcio que chega às lesões quando em contato íntimo, é muito boa e não é discutido.

Entre as aplicações clínicas do CPM estão, de modo geral, tratamento de polpas vitais e necróticas; capeamento pulpar direto e indireto; pulpotomias; apacificação; reabsorções externas, internas e comunicantes; perfurações radiculares, de furca, iatrogênicas. Com objetivo de manter os tecidos periodontais adjacentes à perfuração saudáveis, também pode ser usado em fraturas transversais e obturações permanentes de grandes lesões periapicais, resultantes de processos patológicos crônicos ou agudos. Para reimplantes e reforço de paredes dentinárias também estão indicados. Pode ser usado como tampão apical para obturação com outros materiais de uso endodôntico ou cirúrgico, e em retrobturações, já que, possuem grande estabilidade dimensional e boas propriedades de selamento marginal. Com as propriedades hidrofílicas do material a umidade do tecido periodontal acelera o tempo de presa, diminuindo eventuais lesões aos tecidos periodontais.

Quanto aos aspectos gerais é um cimento usado para selamento e preenchimento de cavidades dentais: possui pouco nível de óxido de ferro, abaixo de 0,5%. Apresenta plasticidade, menor tamanho das partículas e com menor superfície específica. Tem capacidade osteoindutora; menor tempo de trabalho e favorece a deposição de cálcio em regiões mecanicamente inacessíveis favorecendo o processo de mineralização; possui estabilidade química e dimensional através do tempo, contém altíssima quantidade de íons cálcio o que diminui a permeabilidade capilar, diminui o extravasamento de plasma, favorecendo a regeneração biológica; contém um pH ótimo para a atuação da fosfatase alcalina variando entre 9,4 e 10 que é um fator determinante para o potencial reparador dentino-odontogênico. Permite a adesão de carbonato de cálcio, que forma a barreira de osteocimento durante a reparação de lesões ósseas e dentárias; menor tempo de presa, o que evita sua dispersão e toxicidade, assim como melhorar a irritação pela presença física.

A utilização do dióxido de silício e o tamanho de suas partículas permitem sua entrada nos canalículos dentinários produzindo a obliteração de sua luz. Ao ser utilizado à temperatura de 37 °C não gera poros, em sua superfície, durante o tempo de presa, e permite uma superfície mineral ideal para a aderência e depósito de células. Assim, apresenta condições biológicas ideais para gerar um tratamento com silêncio clínico absoluto. Não apresenta em sua constituição mercúrio ou chumbo. Tem menos de 2 ppm de arsênico (0,11 ppm) níveis muito abaixo dos níveis máximos tolerados para esse tipo de material. Contém em sua composição cimento Portland (75 a 85%), um agregado SiO_2 (3 a 5,5%), um agregado de CaCO_3 (5 a 10%), um agregado de BaSO_4 (10 a 20%) e/ou trióxido de bismuto (10 a 20%). Esse pó é misturado com água destilada estéril ou solução fisiológica estéril. Toma presa tanto em ambiente úmido quanto seco, o que favorece a sua utilização em ambiente cirúrgico devido à presença de sangue. Depois de manipulado, se torna uma estrutura sólida, impermeável ao fluido tissular e resistente. A proporção de manipulação ressaltada pelo autor é 3 de pó para 1 de líquido preferentemente, e tempo de manipulação em torno de 1 a 2 minutos. O tempo de endurecimento de aproximadamente 1 hora e 30 min e tempo de trabalho de 15 a 25 minutos.

O pó do cimento portland é conseguido através de um processo que consiste essencialmente na moagem de matérias primas como carbonato de cálcio, alumina, sílica e óxido de ferro. A mistura obtida é levada a um forno rotatório à temperatura aproximada de 1450 °C. O carbonato de cálcio se decompõe liberando o anidrido carbônico. O óxido de cálcio resultante, e demais óxidos, sofrem uma fusão incipiente reagindo e se recombinao. A massa que sai do forno, em forma de grânulos fundidos, é chamada de clínquer, e é esfriada e moída até a formação de um pó muito fino. Assim, os principais componentes presentes no cimento Portland

são aluminato tricálcico, silicato tricálcico, ferro aluminato tetracálcico, denominados genericamente em odontologia e medicina como agregados trióxidos minerais.

VASCONCELOS¹⁶² em 2006, avaliou algumas propriedades físico-químicas de alguns cimentos inclusive do CPM. Neste estudo o material apresentou pH alcalino e foi capaz de liberar íons cálcio, porém, em períodos longos ocorreu uma redução. Quanto ao tempo de presa o CPM apresentou valores intermediários aos demais cimentos estudados. Considerando solubilidade o CPM mostrou uma porcentagem média de 0,91% estando dentro do valor máximo permitido pela ADA.

Ainda em 2006, **BRAMANTE et al.**¹⁸ apresentaram algumas vantagens do CPM em relação em ao amálgama e compostos derivados do óxido de zinco e eugenol, destacando-se o excelente selamento marginal que impede a migração bacteriana e dos fluidos tissulares para o interior dos canal radicular e também tamanho adequado das partículas de pó , conferindo ao material boa aderência as paredes dentinárias. Relatam ainda as indicações clínicas do CPM como proteção pulpar direta, pulpotomias, perfurações e reabsorções radiculares, cirurgias parendodônticas e também como tampão apical em dentes com rizogênese incompleta.

OROSCO¹¹¹ em 2007, analisou a capacidade seladora e adaptação marginal de tampões apicais confeccionados com diferentes materiais sob influencia de três técnicas de obturação dos canais radiculares. Foram utilizados 120 dentes divididos em 4 grupos que receberam os mesmos procedimentos de instrumentação e sobreinstrumentação padronizando-se o diâmetro do forame apical. Tampões com 5 mm de espessura foram confeccionados para o grupo da pasta L & C, MTA Ângelus, CPM, MBPc. Depois de receberem diferentes técnicas de obturação cada subgrupo foi mergulhado em solução de rodamina 0,2% por 48 horas. Os dentes foram desgastados e para a análise da infiltração marginal considerou o traço de maior extensão do corante. Para a análise da adaptação marginal, após metalização dos espécimes, foram submetidos ao microscópio eletrônico de varredura e a mensuração da desadaptação foi realizada de forma linear. O MBPc foi o que apresentou o menores valores para infiltração marginal e o CPM o cimento que apresentou a melhor adaptação marginal, porém sem diferença estatisticamente significativa para os demais materiais.

CANZANI et al.²¹ em 2007, avaliaram a atividade antimicrobiana de cimentos a base de agregados trióxidos minerais - MTA ProRoot cinza e CPM – Cimento Portland Modificado em obturações retrógradas. Foram utilizados 32 dentes humanos extraídos e conservados em solução salina. O ápice foi removido anteriormente a limpeza e modelagem do conduto radicular. Foram realizadas cavidades retrógradas de 3 mm de profundidade que foram obturadas com cada um dos materiais testados. Os dentes foram divididos em 3 grupos: 12 dentes para o tratamento com MTA, 12 com tratamento com CPM e 8 que serviram como controle. Mediante curvas de sobrevivência, em intervalos de 0,2, 4 e 24 horas, avaliou-se a atividade bactericida ou inibitória frente a quatro cepas de microorganismos. Os resultados obtidos não mostraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

2.5 Sobre sulfato de Cálcio

Durante a idade média, o gesso foi muito difundido, principalmente na França. A sua descoberta foi atribuída a um pastor de Montemartre que ao construir uma fornalha ao ar livre, observou que ela se desfazia pela ação do calor e após a chuva, com a hidratação, voltavam a se solidificar. Até hoje, a França é conhecida pelas jazidas de gesso muito puras e, portanto, recebe o nome de “gesso de Paris”.

Para fins odontológicos é usado o sulfato de cálcio di-hidratado ($\text{CaSO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$). O sulfato de cálcio hemi-hidratado é resultado da calcinação do sulfato de cálcio di-hidratado submetido a temperaturas de 110 a 120 °C.

Segundo **WIRSCHING**¹⁶⁵ em 1993, o sulfato de cálcio constitui o gesso, que é um mineral comum, amplamente distribuído na terra. Não é encontrado somente em regiões vulcânicas. Grandes quantidades de gesso são obtidas por meio de processos industriais. Nestes casos o sulfato de cálcio é usualmente obtido em forma de pó muito fino. O gesso é útil como material industrial, pois perde rapidamente sua hidratação quando aquecido, produzindo total ou parcialmente o gesso calcinado, para logo reverter-se ao di-hidratado original quando a água é novamente adicionada a ele. Estes dois fenômenos, a desidratação e a reidratação são à base da tecnologia do gesso.

O primeiro relato do uso de sulfato de cálcio (gesso Paris) para preenchimento de defeitos ósseos, em pacientes portadores de lesões ósseas, foi feito por **DREESMAN**³⁸ em 1892. Os resultados mostraram que de 8 pacientes, 6 apresentaram preenchimento com osso, um teve cicatrização incompleta e o outro não houve formação óssea.

Embora o sulfato de cálcio tenha sido usado por muitos anos seguidos para o preenchimento de defeitos ósseos, numa extensão limitada, não aparecem outros relatos até 1925, até que **KOFMANN**⁷⁸ apresenta o resultado final de um paciente operado em 1912 com abscesso na tíbia. O sulfato de cálcio, segundo o relato, foi usado para o preenchimento de defeitos ósseos com bons resultados.

NIELSON¹⁰⁹, em 1944, produziu um relato mais extenso, com informações relativas aos resultados finais obtidos após a inserção de sulfato de cálcio em 14 pacientes com cavidades ósseas limpas e 16 cavidades ósseas infectadas, 2 tuberculosas. Nove destes pacientes foram acompanhados por quatro a sete anos e meio. Não houve complicações atribuídas à implantação de sulfato de cálcio. Os resultados foram satisfatórios tanto em cavidades limpas quanto infectadas.

Em 1956, **PELTIER; LILLO**¹¹⁸ relataram experimentos usando cilindros de sulfato de cálcio, esterilizados a 200 °C por 48 horas, implantados em defeitos cirúrgicos subperiostais preparados de cães. Eles concluíram que as ressecções foram grandes demais para haver a regeneração espontânea, não encontrando nenhuma relação direta entre a ocorrência do reparo ósseo e o comprimento dos defeitos ósseos preenchidos com gesso. Também não encontraram diferença aparente entre os cilindros de gesso (sulfato de cálcio) comercial e os do tipo dentário. Em 14 cães com defeitos subperiostais no rádio, observaram radiograficamente o completo desaparecimento do material entre 45 e 72 dias e a completa regeneração dos defeitos em aproximadamente 3 meses. A reabsorção do sulfato de cálcio foi acompanhada de um aumento do nível sérico de cálcio nos cães. Assim que neoformação óssea progrediu, os níveis séricos de cálcio voltaram ao normal. Num outro estudo, os defeitos foram analisados com a remoção do tecido periosteal adjacente. Houve uma regeneração parcial em 2 de 9 animais estudados. Nenhuma regeneração tanto histológica, quanto radiográfica pode ser observada nos outros

animais. Em todos os animais houve reabsorção completa do sulfato de Cálcio. O sulfato de cálcio sozinho não foi osteogênico, mas associado ao periósteo, foi capaz de acelerar a neoformação óssea.

LEBOURG; BIOU⁸⁶ em 1961, usaram gesso Paris para preencher feridas ósseas remanescentes de exodontia de terceiros molares impactados e outros defeitos ósseos na maxila e mandíbula. Três ou quatro semanas após o implante, evidências radiográficas mostraram que o sulfato de cálcio tinha sido completamente reabsorvido e a cicatrização era maior quando comparada com o controle.

Em 1966, **BAHN**⁹ criou defeitos bilaterais, através de cirurgia, em 10 em mandíbulas de coelhos. Preencheu os defeitos do lado direito com sulfato de cálcio e fluidos e do lado esquerdo, controle, apenas com sangue. Os animais foram mortos em intervalos designados e avaliados clinicamente e microscopicamente. Os mortos com 4 dias apresentaram hemorragia bilateral, fragmentos ósseos necróticos, inflamação moderada, fibrina, proliferação fibroblástica e vascular. Observou maior reparo ósseo no controle, concluindo que em estágios iniciais a cicatrização foi inibida pela pressão do gesso solidificado nas margens dos defeitos. Após o período inicial de 4 a 6 dias iniciou um processo de reabsorção em volume do sulfato de cálcio marginal. A regeneração óssea foi acelerada em todos os períodos experimentais subsequentes, sendo evidenciada a predominância de tecido osteóide e novo osso nas áreas de implantação de sulfato de cálcio comparadas com o do grupo controle. Nos coelhos sacrificados aos 22 dias de cirurgia, o defeito estava preenchido com osso enquanto o lado controle ainda apresentava fibroblastos e atividade osteóide. Aos 54 dias apresentou osso mais espesso e mais extenso nos defeitos experimentais. Concluiu que houve um aumento na regeneração óssea com a implantação de sulfato de cálcio fluido nos defeitos ósseos.

Já em 1980, **FRAME**⁵¹ avaliou o sulfato de cálcio di-hidratado com uma cobertura de n-butil 2 cianocrilato implantado em defeitos circulares de calotas cranianas de coelhos. O objetivo era determinar a extensão da substituição desse material por osso e examinar a reação do tecido vizinho. Utilizou 16 animais que tiveram uma perfuração de 15 mm na abóboda craniana mediana. O sulfato de cálcio foi preparado com o próprio sangue do animal e foi

recoberto com uma fina camada de cianocrilato no grupo 1, e no controle houve o preenchimento da cavidade apenas com o coágulo sanguíneo. Foram mortos 8 coelhos após 24 semanas e no grupo controle, visualizou novo osso formado na periferia em forma de ilhotas isoladas. Histologicamente houve um crescimento de osso nas margens, porém, não tão espesso quanto o osso do crânio adjacente apresentando algumas espículas com calcificação incompleta. Radiograficamente mostraram área radiolúcida central. Os do grupo do sulfato de cálcio com 24 semanas apresentaram crescimento ósseo nas margens, ponte mineralizada incompleta e preenchimento com tecido fibroso na fenda remanescente. Nas 36 semanas o aspecto radiográfico do controle apresentou-se semelhante ao de 24 semanas com deposição óssea periférica e área sem calcificação ao centro. Histologicamente apresentaram pequenos fragmentos ósseos e tecido medular. Nenhum caso mostrou completa deposição de osso fechando o defeito; mostrou a formação de um novo osso, com a formação de tecido hematopoiético na periferia, com denso tecido conjuntivo ocupando o centro do defeito.

Em 1988, **ELKINS; JONES**⁴⁴ compararam os efeitos de implantes de sulfato de cálcio e de osso esponjoso autógeno puro ou misturado, em proporções iguais, na cicatrização de defeitos corticais criados cirurgicamente em fêmures de cães. Foram utilizados 12 cães com 4 defeitos de 0,25 polegadas de diâmetro. Um defeito foi preenchido com coágulo, outro com sulfato de cálcio, osso esponjoso, e a mistura de ambos. A intensidade de cicatrização óssea foi avaliada clínica, radiográfica e histologicamente. No período de 2, 4, 6, 8, 10, 12 semanas. Radiograficamente não foi conclusiva a resposta pelo tamanho do defeito ser pequeno. Clinicamente não houve problemas com infecção. Nenhuma reação de tecido mole foi observada e todas as incisões cicatrizaram. Não houve evidencia de inflamação ou reação de corpo estranho nas cavidades. Não foi constatada diferença na intensidade de cicatrização óssea com a utilização do osso autógeno, sulfato de cálcio e a mistura de ambos. Todos os implantes tiveram respostas superiores em relação ao defeito do grupo controle.

PAYNE et al.¹¹⁶ em 1996, determinaram a capacidade de fibroblastos gengivais humanos, *in vitro*, de migrar através de um gradiente quimiotático sobre três diferentes barreiras para regeneração tecidual guiada: politetrafluoretileno, ácido polilático e sulfato de cálcio estéril. Como controle, usou-se o poliestireno. A análise comparativa dos dados mostrou que média de migração fibroblástica para os controles foi significativamente maior do que em

qualquer dos 3 materiais. A média de migração sobre o sulfato de cálcio foi maior do que no grupo do ácido polilático. Os exames por microscopia mostraram que os fibroblastos do grupo do sulfato de cálcio se mostraram mais retidos e difusos enquanto os dos outros grupos não apresentaram morfologia útil para migração. Os autores concluíram que o sulfato de cálcio oferece o maior potencial para a regeneração tecidual guiada em locais cirúrgicos onde a cicatrização por primeira intenção não pode ser obtida.

PECORA¹¹⁷ em 1997, avaliou o efeito do sulfato de cálcio como barreira para permitir a regeneração óssea por meio da osteopromoção. Foram utilizados 40 ratos e defeitos de 5 mm foram criados bilateralmente nos ângulos mandibulares. Esse defeito foi preconizado porque é crítico, ou seja, não cicatriza espontaneamente durante a vida do animal. De um lado, foi acrescentado discos feitos da mistura de sulfato de cálcio e solução salina, e do outro deixado sem material. Os animais foram mortos com 3, 9, 18, 22 semanas. O autor observou que em 3 semanas, 6 espécimes de teste tiveram cicatrização parcial e em 3 a cicatrização óssea foi completa. Achados similares foram vistos em outros períodos. O grupo controle não apresentou crescimento ósseo em 3 e 9 semanas, e a cicatrização parcial aconteceu em 18 e 22 semanas. Concluiu que o sulfato de cálcio pode servir de barreira biológica.

Em 2003, **APAYDIN; TORABINEJAD**⁶ se propuseram a avaliar o efeito do sulfato de cálcio no processo de reparo de tecidos mineralizados após cirurgia parendodôntica em cães. Para isso, foram realizadas apicetomias em 24 raízes de segundos, terceiros e quartos pré-molares inferiores de cães, tanto do lado direito como do esquerdo da mandíbula. Após a apicetomia, foi realizado o preparo apical com ultrassom, e as cavidades foram preenchidas com MTA. Os defeitos ósseos do lado direito foram preenchidos com sulfato de cálcio hemi-hidratado (Capset, Lifecore Biomedical) e os do lado esquerdo permaneceram como controle, sendo preenchidos com coágulo sanguíneo. Os resultados mostraram que a colocação do sulfato de cálcio nos locais de osteotomia, após cirurgia parendodôntica, não intensificam o reparo alveolar ou dentoalveolar, entretanto, o material não apresentou efeitos negativos. Verificou-se também que o sulfato de cálcio não altera significativamente as propriedades do MTA.

O mecanismo de reposição óssea frente ao sulfato de cálcio também foi avaliado por **ORSINI et al**¹¹², 2004, utilizando-o na forma de grânulos e cimento. Foram utilizados 8

coelhos, nos quais se criou dois defeitos de 6 mm em cada tíbia. Os defeitos das tíbias direitas foram preenchidos com cimento de sulfato de cálcio (Surgiplaster - Classimport-Italy), e os das tíbias esquerdas foram preenchidos com grânulos de sulfato de cálcio (Surgiplaster - Classimport-Italy). Quatro animais foram mortos após duas semanas, e os outros quatro após quatro semanas. Depois de duas semanas, ambas as formas de sulfato de cálcio ainda estavam presentes, havia 10% dos defeitos preenchidos com tecido ósseo neoformado, sendo este localizado ao redor do material. Após quatro semanas, o sulfato de cálcio, tanto em grânulos como em cimento, foi quase completamente reabsorvido e substituído por tecido ósseo, e aproximadamente 34% dos defeitos estavam preenchidos por osso neoformado. Além disso, não foram encontradas células inflamatórias e não houve diferença estatisticamente significativa entre as formas de apresentação do material. O sulfato de cálcio mostrou-se, portanto, um material reabsorvível, osteocondutor, e bem tolerado pelo hospedeiro, e pode representar uma alternativa razoável no preenchimento de defeitos ósseos.

The bottom of the page features a series of overlapping, semi-transparent geometric shapes. From left to right, there is a light orange trapezoid, a larger light orange rectangle, a light green trapezoid, and a light orange rectangle. The text '3 PROPOSIÇÃO' is centered within the last rectangle.

3 PROPOSIÇÃO

3 - PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi:

3.1 - Avaliar e comparar, microscopicamente, a resposta do tecido subcutâneo de ratos frente à implantação de tubos de polietileno contendo os seguintes materiais:

- Clínquer do cimento Portland branco puro,
- Clínquer do cimento Portland branco acrescido de Sulfato de Cálcio a 2% em peso
- Clínquer do cimento Portland branco acrescido de Sulfato de Cálcio a 5 % em peso.
- Cimento Portland Modificado – CPM

3.2 - Avaliar o tempo de presa inicial e final dos cimentos experimentais

The bottom of the page features a series of overlapping, semi-transparent geometric shapes. On the left, there is a large orange trapezoid. To its right is a smaller, lighter orange trapezoid. Further right is a light green trapezoid. On the far right, there is a series of overlapping orange and light green trapezoids that create a sense of depth and movement. The text '4 MATERIAL E MÉTODOS' is centered horizontally across the middle of these shapes.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1- PREPARO DO CLÍNQUER

O cimento Portland branco sofre, no seu processo de fabricação, uma fusão incipiente de seus componentes a altas temperaturas, e quando resfriado se aglomera formando pequenas esferas denominadas de clínquer. O clínquer branco utilizado neste trabalho foi obtido de uma fábrica de cimento¹. Para a obtenção do pó do cimento Portland, a partir do clínquer, foi realizado uma trituração manual num gral de porcelana e pistilo (Fig.1). O material passou por várias triturações até o tamis 0.065 mm, obtendo-se assim um pó extremamente fino (Fig.2).

Com auxílio de uma balança de precisão, acrescentou-se ao pó, 2 e 5 % de sulfato de cálcio³ do seu peso total. Foram misturados e acondicionados em tubos plásticos identificados até o momento da sua utilização.

A proporção pó/ líquido utilizada no experimento foi uma medida de pó para uma gota de soro fisiológico para os clínquer do cimento Portland semelhante à recomendada pelo fabricante do MTA. O CPM³ é um cimento à base de Agregado Trióxido Mineral, de cor branca, o qual é misturado com soro fisiológico estéril que acompanha a embalagem do produto. A proporção pó/líquido utilizada foi à recomendada pelo fabricante que é 3/1. Obteve-se assim, uma massa plástica pastosa que foi então, cuidadosamente acondicionada nos tubos de polietileno.

4.2- CIMENTOS

Foram utilizados neste trabalho quatro materiais com as seguintes formulações:

4.2.1. CPM (Fig.3)

Apresentação:

- Frasco com pó
- Frasco com líquido

1- Indústria Cimento Portland Itaú de Minas- Grupo Votorantim – MG - Brasil

2- Carlo Erba Reagenti - Itália

3 -EGEO SRL - Argentina

Composição:

Pó: SiO_2 , K_2O , Al_2O_3 , SO_3 , CaO , Bi_2O_3 , MgO , adição de carbonato de cálcio, dióxido de silício, trióxido de bismuto, sulfato de bário e resíduos insolúveis (sílica cristalina, óxido de cálcio, sulfato de potássio e sódio)

Líquido: solução fisiológica estéril

Instruções de uso: utilizar três partes de pó para uma de líquido. Espatular o pó incorporando lentamente o líquido em uma placa de vidro permitindo assim a hidratação completa do pó e buscando uma perfeita homogeneização, até obter um cimento de consistência pastosa.

4.2.2 Clínquer do cimento Portland puro (Fig. 4).

O clínquer branco foi utilizado na proporção recomendada para o MTA, ou seja, uma parte de pó para uma parte de água destilada.

4.2.3 Clínquer do cimento Portland acrescido de 2% de Sulfato de cálcio (Fig.5).

Neste grupo, ao pó do clínquer do cimento Portland, foi acrescentado 2 % de sulfato de cálcio do peso total com o objetivo de retardar o tempo de presa do material

Composição:

Pó: 98% de clínquer do cimento Portland

2% de sulfato de cálcio di-hidratado

Líquido: soro fisiológico 0,9%.

Proporção: foi utilizada a mesma proporção indicada para o MTA, uma parte de pó para uma parte de líquido.

4 - Indústria Cimento Portland Itaú de Minas- Grupo Votorantim – MG - Brasil

5- Bronzinox - São Paulo, SP, Brasil

4.2.4 Clínquer do cimento portland acrescido de 5% de Sulfato de cálcio

(Fig. 6).

Ao pó do clínquer puro foi acrescentado 5% de sulfato de cálcio do peso total, com o objetivo de retardar ainda mais a presa do material.

Composição:

Pó: 95% de clínquer do cimento Portland

5% de sulfato de cálcio di-hidratado

Líquido: soro fisiológico 0,9%.

PROPORÇÃO: foi utilizada a mesma proporção indicada para o MTA, uma parte de pó para uma parte de líquido.

Fig. 1 a, b - Clínquer do cimento Portland branco comparado ao tamanho do pistilo e no grau de porcelana para o processo de trituração

Fig. 2 - Pó extremamente fino do clínquer do cimento Portland

Fig. 3 - CPM – Cimento Portland Modificado

Fig. 4 - Pó do clínquer do cimento Portland puro

Fig. 5 - Pó do clínquer do cimento Portland acrescido de 2% de Sulfato de Cálcio

Fig. 6 – Pó do clínquer do cimento Portland acrescido de 5% de Sulfato de Cálcio

4.3- ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados 24 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), adultos jovens, com peso entre 200 e 300 gramas, provenientes do Biotério da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP, mantidos em gaiolas plásticas coletivas, higienizadas, colocadas em ambiente arejado e iluminado naturalmente, recebendo água *ad libitum* 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 n° 23/2005) e aprovado em 17/11/2005 (ANEXO A).

4.4-TUBOS DE POLIETILENO

Foram utilizados 96 tubos de polietileno⁶ com 1,5 mm de diâmetro interno, 2,0 mm de diâmetro externo e 10,0 mm de comprimento (Fig. 7), fechados em uma das extremidades por cone de guta-percha⁷, sendo desinfetados em solução de glutaraldeído a 2,2%⁸ onde foram mantidos por 12 horas. Antes de serem preenchidos com os cimentos, os tubos foram lavados copiosamente com soro fisiológico⁹ e secos externamente com gaze estéril e internamente com cones de papel absorvente¹⁰ (Fig.8).

Os cimentos foram manipulados (Fig. 9) seguindo a proporção de 1 gota de soro fisiológico para os cimentos clínquer puro, 2% e 5% para um medidor de pó do conjunto do MTA ângelus. O CPM foi manipulado seguindo as instruções do fabricante e utilizando a água destilada que vem na própria embalagem.

Em seguida os cimentos foram introduzidos nos tubos de polietileno com auxílio de uma espátula de inserção e um calcador endodôntico¹¹ (Fig.10).

6- Embramed Ind. Com. Ltda. - São Paulo, SP, Brasil.

7- Dentsply - Petrópolis, RJ, Brasil.

8 - Cidex - Johnson & Johnson, Produtos Profissionais Ltda. - São José dos Campos, SP, Brasil.

9 - Soro fisiológico 0,9%

10- Tanari Tanarimam industrial Ltda

11- Calcador tipo Bernabé

12,13 Agribrands do Brasil Ltda. - Paulínia, SP, Brasil

4.5 - ANESTESIA DOS ANIMAIS

Os animais foram pré-anestesiados com cloridrato de Ketamina¹⁰, na dose de 25 mg/Kg IM na face posterior da coxa. Após um período de latência de 2 a 5 minutos, a anestesia foi complementada com a associação do Cloridrato de Ketamina e Cloridrato de Xilazina¹¹, relaxante muscular, analgésico e sedativo, na dose de 25 mg/Kg para 10 mg/Kg - IM, respectivamente (Fig. 11). O tempo de trabalho para cada animal foi de aproximadamente 40 minutos.

A conduta anestésica seguiu a tabela peso/dosagem estabelecida pelo Biotério da FOB-USP (ANEXO B).

4.6 - GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os 24 ratos foram distribuídos em três grupos de 8 animais para cada período experimental de 15, 30 e 60 dias (QUADRO 1). Cada animal recebeu quatro implantes, um de cada tipo de material. O lado do tubo selado com a guta-percha serviu como controle e, portanto, esteve presente em todos os cimentos e períodos testados.

QUADRO 1 - Distribuição dos implantes com relação aos materiais e períodos empregados no experimento

GRUPO	MATERIAL	PERÍODO		
		15 dias	30 dias	60 dias
1	CPM	8	8	8
2	Clínquer puro	8	8	8
3	Clínquer c/ sulfato de cálcio a 2%	8	8	8
4	Clínquer c/ sulfato de cálcio a 5%	8	8	8
5	Guta-percha (controle)	32	32	32

4.7 - IMPLANTAÇÃO DOS MATERIAIS

Após a pesagem e anestesia (Fig.12), foi realizada a tricotomia (Fig. 13) da região dorsal dos animais e procedeu-se à anti-sepsia com álcool iodado a 1%¹⁴ (Fig. 14).

Foi realizada uma incisão longitudinal (Fig. 15), na região mediana do dorso de cada animal, com uma lâmina de bisturi n° 15¹⁵. Lateralmente às incisões, o tecido cutâneo foi pinçado e uma pequena divulsão (Fig. 16) foi realizada com tesoura de ponta romba. Em seguida, cada tubo de polietileno, preenchido com o material em teste, foi colocado dentro da ponta de um Trocarte (Fig. 17) com a região do cimento voltada para a ponta. Este foi levado até atingir uma profundidade aproximada de 18 mm, completando a divulsão dos tecidos (Fig. 18). Cuidado extremo foi tomado para não perfurar ou dilacerar os tecidos. Assim obtiveram-se quatro lojas cirúrgicas, tomando-se o cuidado de realizar os implantes não paralelos à linha da incisão, no sentido de se evitar a sua expulsão ou qualquer mobilidade.

Cada animal recebeu quatro corpos de prova, dois na região escapular e dois na região pélvica (Fig. 19) contendo, cada um, um cimento diferente, obedecendo a uma ordem de colocação previamente estabelecida, anotada numa ficha apropriada (APÊNDICE A), havendo rotatividade dos cimentos em relação às regiões anatômicas. As bordas da incisão foram suturadas (Fig. 20) com fio de seda 3.0¹⁶, que foram removidos após 7 dias da cirurgia. Para identificar os ratos, foram feitas marcações em forma de cunha nas suas orelhas (Fig. 21).

Depois da implantação, os animais foram colocados em gaiolas individuais e 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 (Fig. 22). Passados sete dias, os animais foram novamente colocados em gaiolas coletivas, onde permaneceram até que se completassem os períodos de observação (15, 30 e 60 dias).

14 Cinord Sul Indústria e comércio Ltda. - Ribeirão Preto, SP, Brasil.

15 Free-Bac, Wuxi Xinda Medical Device Co. Ltda. - Xishan City, China.

16 Ethicon - Johnson & Johnson, Produtos Profissionais Ltda. - São José dos Campos, SP, Brasil.

Fig. 7 - Tubos com o cimento e a guta-percha

Fig. 8 - Secagem interna dos tubos com cones de papel absorvente

Fig. 9 - Espatulação do cimento

Fig. 10 - Preenchimento do tubo com calcador

Fig. 11 - Anasedan e Dopalem: medicamentos utilizados para a anestesia dos animais

Fig. 12 - Anestesia intramuscular na região de coxa

Fig. 13 - Tricotomia da região dorsal

**Fig. 14 – Anti-sepsia com
Álcool Iodado**

**Fig. 15 – Incisão mediana no
dorso do animal**

Fig. 16 – Divulsão dos tecidos com tesoura de ponta de romba

Fig. 17 - Trocarte: instrumento utilizado na implantação dos tubos no tecido subcutâneo dos ratos. Na visão aproximada: trocarte carregado com tubo de polietileno preenchido por cimento

Fig. 18 - Trocarte no momento da implantação do tubo

Fig. 19 - Esquema da localização dos tubos de polietileno

Fig. 20 - Sutura

Fig. 21- Identificação do animal

Fig. 22 - Pós-operatório imediato

4.8 - MORTE DOS ANIMAIS E REMOÇÃO DOS TECIDOS

Decorridos os períodos experimentais os animais foram novamente anestesiados na região posterior da coxa e então foi realizada a tricotomia. A seguir a região dorsal foi limpa com gazes umedecidas em soro fisiológico 0.9 %. A morte de cada animal foi conseguida com uma dose excessiva de Cloridrato de Ketamina (anestésico) injetada no coração. Em seguida, os corpos de prova foram localizados por palpação para facilitar sua remoção e a área do implante foi dissecada (Fig. 23), abrangendo suficiente tecido normal ao redor dos tubos. Os blocos de tecido contendo os tubos e tecidos adjacentes foram distendidos em papel cartão com a finalidade de facilitar o processo de inclusão. Após esse processo, as peças foram fixadas em solução de formol a 10% tamponado e colocadas em potes plásticos com tampa, contendo a identificação do animal, grupo e data.

4.9 - PROCESSAMENTO LABORATORIAL

Os implantes foram mantidos em formol por um período de sete dias para o início da fase laboratorial. Posteriormente, foram realizadas lavagens das amostras em água corrente por 24 horas. Em seguida, eliminou-se o tecido adjacente em excesso com auxílio de navalhas para micrótomo, deixando a amostra com um formato retangular e tecido suficiente para a realização da avaliação microscópica. A extremidade do bloco de tecido que continha o material experimental foi incisada com o objetivo de identificar e orientar ambos os materiais no momento da inclusão. Em seguida procedeu-se a remoção dos tubos. Primeiramente, se incisou, de modo firme e cuidadoso, longitudinalmente num dos lados do tubo com auxílio de uma lâmina de bisturi n° 11 sem atingir as extremidades dos tubos criando um espaço por onde se introduziu cuidadosamente uma sonda interproximal n°1 (Fig. 24), para desprender a cápsula fibrosa e remover o tubo de polietileno sem dilacerar a cápsula fibrosa. Finalmente, as peças foram colocadas em pequenos frascos com álcool 70% durante um período de 24 horas e com suas respectivas etiquetas, escritas a lápis, para correta identificação.

Decorrido este período, foi realizada a desidratação das amostras, onde as peças foram imersas em três banhos de álcool etílico absoluto. Posteriormente, realizou-se a diafanização com três banhos de xilol (Fig. 25) e as amostras foram mergulhadas em Histosec¹⁷ (parafina + resina sintética). Em seguida, as peças foram impregnadas em Histosec, tomando cuidado de eliminar as bolhas de ar que poderiam ter se formado no interior do espaço que era ocupado pelo tubo. As amostras foram colocadas numa orientação fixa nas formas de inclusão, para identificar

as extremidades contendo o cimento e o controle. Cada material recebeu uma etiqueta, para a correta identificação de cada bloco.

Após a inclusão das amostras, os blocos (Fig. 26) contendo os tecidos, sofreram cortes microscópicos semi-seriados de 5µm de espessura num micrótomo¹⁸ no sentido longitudinal da estrutura tubular. O objetivo foi coletar numa mesma lâmina a extremidade que serviu de controle, e também, a do cimento experimental.

Os cortes foram corados com Hematoxilina e Eosina e avaliados por microscopia óptica¹⁹, para análise da resposta tecidual capsular e subcapsular aos materiais.

17 - Merck KGA, Alemanha.

18 - Leica RM 2265 instruments, Alemanha

19 - Microscópio óptico binocular Olympus CH2

Fig. 23 – Aspecto dos tubos no momento da remoção do tecido subcutâneo

Fig. 24 – Remoção dos tubos previamente ao processamento da peças

Fig. 25 – Peças em banho de Xilol

Fig. 26 - Blocos incluídos

4.10- ANÁLISE MICROSCÓPICA

4.10.1 Avaliação Histológica

As respostas do tecido conjuntivo subcutâneo em contato com os cimentos testado (cápsula) e subjacente aos cimentos (subcápsula) foram avaliadas de forma descritiva e por métodos morfométricos (densidade de volume das fibras, fibroblastos, células inflamatórias, vasos e outros componentes presentes na reação produzida pelo cimento em contato imediato e subjacente), que foram submetidas à análise estatística. Fotomicrografias dos cortes teciduais representativos de cada grupo experimental foram obtidos em um fotomicroscópio²⁰, utilizando-se filme Kodak Gold - ASA 100.

4.10.2 Avaliação morfométrica

4.10.2.1 Casualização dos campos microscópicos

Foi utilizado o método estereológico para a casualização dos campos neste estudo. Estes métodos são baseados em princípios geométricos estatísticos, derivados da probabilidade que imagens dos perfis da estrutura na secção microscópica coincidam com o sistema-teste apropriado. Assim, é relevante, nestes métodos, a casualização das amostras, ou seja, a escolha das amostras do tecido a serem confrontadas com o sistema-teste, a qual deve ser realizada de maneira que se elimine a ocorrência de vício na amostragem. Isto é conseguido pela aplicação do procedimento de casualização em todos os estágios do experimento, desde a seleção dos cortes teciduais obtidos em cada lâmina e, principalmente, da seleção dos campos microscópicos a serem utilizados nas quantificações das estruturas propostas ao estudo.

De cada amostra, foram obtidas 5 lâminas, contendo quatro cortes semi-seriados cada uma, com intervalos de 50µm entre cada lâmina. Foram selecionados três cortes de lâminas intercaladas para a análise. Para a escolha dos cinco campos microscópicos por corte, foi utilizado um esquema de casualização sistemática (Fig. 27) segundo as indicações de **WEIBEL**¹⁶³, em 1969. Nesse esquema os campos microscópicos são escolhidos em intervalos regulares, seguindo o mesmo padrão, de maneira que todas as regiões do corte histológico sejam representadas na mesma contagem.

²⁰ Carl Zeiss, Inc - Alemanha

Com a finalidade de verificar a homogeneidade da amostra utilizada na contagem de pontos sobre as estruturas da amostra (15 campos microscópicos por área capsular e subcapsular), obtida através do esquema de casualização sistemática, aplicamos o teste do qui-quadrado múltiplo (X^2). Assim, em uma das amostras do lote total, escolhidos ao acaso, realizou-se a contagem de pontos em um total de 30 campos microscópicos casualizados ao invés daqueles 15 campos padronizados. Os resultados conseguidos nos primeiros 15 campos foram confrontados com os conseguidos nos 15 campos seguintes por meio do teste do X^2 múltiplo. Neste tipo de teste, a partir dos resultados das duas séries de contagens é calculado o valor esperado para cada critério avaliado. O X^2 para cada critério morfológico avaliado foi obtido por meio da relação:

$$X^2 = (\alpha - \beta)^2 / \beta$$

Onde, α = valor observado na contagem, β = valor esperado

Para que a amostra seja homogênea a soma de todos os valores de X^2 não deve ultrapassar o valor de X^2 crítico. O nível de probabilidade do X^2 crítico foi estabelecido, para todos os casos, em nível de 5% de erro ($P < 0,05$). Segundo o valor encontrado na tabela de distribuição do qui-quadrado, o valor de X^2 crítico é 11,070. Em todos os casos, o X^2 calculado não ultrapassou o X^2 crítico, portanto os 15 campos microscópicos casualizados foram suficientes para obtenção de cada um dos parâmetros morfométricos de densidade de volume neste trabalho.

Fig. 27 - Esquema de casualização dos cinco campos microscópicos na região imediatamente em contato com o cimento e cinco campos na área subjacente ao cimento no corte microscópico.

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

Esses parâmetros histológicos foram avaliados na cápsula e na subcápsula com uma objetiva de imersão de 100X e um graticulo de integração Zeiss colocado em uma ocular Kpl 8X, composta de cinco linhas paralelas e de 25 pontos numa área quadrangular (Fig. 28). A imagem do graticulo foi superposta, sucessivamente, a 15 campos histológicos escolhidos por amostragem sistemática (WEIBEL¹⁶³ 1969) e anotados os número de pontos (Pi) que caíram sobre cada estrutura, ou seja, fibras, fibroblastos, células inflamatórias, vasos e outros componentes (conforme critérios descritos a partir da Figura 29). A densidade de volume (Vvi) foi determinada pela seguinte fórmula:

$$Vvi = Pi/P;$$

onde P = número total de pontos.

Figura 28 - Graticulo de integração Zeiss sobre a imagem de um corte microscópico.

Os critérios morfológicos considerados para contagem morfométrica das estruturas da cápsula fibrosa adjacente ao material implantado e do tecido subjacente, chamado de subcápsula, estão descritos na Fig.29.

Figura 29 - Critérios morfológicos utilizados para a contagem morfométrica em cortes de tecidos corados pela HE para cápsula (A e B) e subcápsula (C e D): Fibras colágenas (F); Fibroblastos (setas vermelhas) - como o citoplasma dos fibroblastos apresentam a mesma coloração das fibras, foram considerados apenas os núcleos; Células inflamatórias: foram evidenciados preferencialmente macrófagos, células gigantes e muito raramente neutrófilos e linfócitos (setas verdes); Vasos sanguíneos (setas pretas); e Outros componentes: foram considerados como material extravasado e a Substância Intercelular Amorfa (estrela azul).

4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos valores obtidos para cada estrutura 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 eles, sendo adotado 0,05 (5%) como nível de rejeição da hipótese de nulidade, ou seja, nível de significância.

4.12 DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE PRESA

A especificação n° 57 da ADA³, que trata da normatização de ensaios que avaliam propriedades físico-químicas de materiais obturadores, norteou a determinação do tempo de presa dos cimentos neste estudo.

Esta avaliação foi realizada num ambiente especial com temperatura de 37°C e umidade de 95% periodicamente controlados. Após a manipulação, os cimentos foram inseridos em anéis metálicos com 10 mm de diâmetro e 2 mm de espessura (Fig. 30). Foram preparadas três amostras para cada material. O tempo de presa começou a ser contado desde o início da manipulação dos cimentos. Decorridos 180 segundos, os espécimes foram submetidos a uma pressão vertical, perpendicular a superfície do cimento, com o auxílio de uma agulha de Gillmore de 113,4g e ponta ativa de 2,11 mm (Fig.31), observando-se a existência ou não da formação de uma depressão ou marcação nos corpos de prova; em caso de se observar uma depressão, colocava-se novamente a agulha após outros 30 segundos, repetindo esta ação até que não se observasse mais a depressão, obtendo assim o tempo de presa inicial. O tempo de presa final foi obtido do mesmo modo, diferenciando que neste caso, pela utilização de uma agulha de Gillmore de 453,6g com ponta ativa de 1,05 mm de diâmetro (Fig.32). Foram registrados, os tempos decorridos desde o início da espatulação até o momento em que não foi mais possível visualizar qualquer tipo de endentação da agulha na superfície tocada do espécime, representando, respectivamente, a presa inicial (113,4g) e final (453,6g) de cada material.

Fig. 30 - Anel metálico utilizado para determinação do tempo de presa

Fig. 31 - Agulha de Gillmore 113,5 g

Fig. 32 - Agulha de Gillmore 453,6 g

The bottom of the page features a series of overlapping, semi-transparent geometric shapes in shades of orange and light green, creating a modern, abstract design.

5 RESULTADOS

5 - RESULTADOS

5.1- Da implantação subcutânea

Os dados obtidos após as análises microscópicas dos espécimes dos cinco grupos, nos três períodos experimentais, são descritos da seguinte forma:

- Avaliação microscópica descritiva do tecido reacional adjacente à superfície do material implantado de todos os grupos nos três períodos para a região da cápsula e subcápsula.
- Avaliação morfométrica da região de tecido reacional com densidade de volume para fibras colágenas, fibroblastos, células inflamatórias, vasos sanguíneos e outras estruturas presentes na região de cápsula e subcápsula.

5.1.1 - Avaliação microscópica descritiva do tecido reacional adjacente à superfície do material implantado de todos os grupos nos três períodos para a região da cápsula e subcápsula

5.1.1.1 – Período de 15 dias

5.1.1.1.1 - Clínquer do cimento Portland puro

Neste grupo observou-se a formação de uma fina cápsula fibrosa contornando o tubo de polietileno e nas extremidades o tecido apresentou-se mais desenvolvido. Na extremidade que continha o material testado, a cápsula mostrou-se mais espessa com fibras colágenas arranjadas em torno do cimento e com muitos fibroblastos volumosos de formato arredondados, evidenciando alta atividade sintética. Nesta região apresentou também pequenos e raros vasos sanguíneos e raríssimas células inflamatórias. O restante da cápsula estava preenchido por espaços pouco corados pela H.E. representando as regiões da Substância Fundamental Amorfa (SFA) e Líquido Intersticial, que não é preservado no processamento histológico (Fig.33 A).

O quadro histológico da subcápsula mostrou uma situação com poucas fibras colágenas permeadas por poucos fibroblastos, vários vasos sanguíneos de diâmetros maiores do que os observados na cápsula e raras células inflamatórias (Fig. 33 B).

5.1.1.1.2 - Clínquer do cimento Portland acrescido com 2% de Sulfato de Cálcio

Este grupo apresentou quadro histológico semelhante ao grupo anterior. Ocorreu a formação de uma fina cápsula fibrosa contornando o tubo de polietileno; na extremidade que continha o material testado, cápsula mais espessa com fibras colágenas arranjadas paralelamente ao cimento com fibroblastos alongados na região mais próxima ao cimento, calibrosos vasos sangüíneos mais afastados do cimento e raríssimas células inflamatórias, predominantemente, linfócitos, indicando que a cápsula encontra-se em fase organizada (Fig. 34 A).

Com relação à subcápsula este grupo apresentou comportamento semelhante ao do clínquer puro, com raros vasos sanguíneos, poucas fibras colágenas, poucos fibroblastos, muitos espaços deixados pela Substancia Intercelular Amorfa e poucas células inflamatórias (Fig. 34 B).

5.1.1.1.3 - Clínquer do cimento Portland acrescido com 5% de Sulfato de Cálcio

O quadro histológico foi parecido com o cimento Portland puro e acrescido com 2% de sulfato de cálcio. Na extremidade que continha o material testado, a cápsula apresentava-se mais organizada, mais espessa, com fibras colágenas mais densas, porém não tão arranjadas paralelamente; fibroblastos mais numerosos, e com núcleos mais arredondados, sempre inseridos entre as fibras colágenas, raros vasos sangüíneos, células inflamatórias e outras estruturas também foram visualizadas (Fig. 35 A).

O quadro histológico da subcápsula mostrou maior quantidade de fibras colágenas, presença de fibroblastos, maiores quantidades de tecido conjuntivo frouxo, presença de poucas células inflamatórias, outras estruturas e vasos sanguíneos distribuídos pelo tecido (Fig.35 B).

5.1.1.1.4 - CPM

O quadro histológico da cápsula mostrou novamente a formação de uma fina cápsula fibrosa contornando todo o espaço deixado pelo tubo de polietileno, enquanto que, na superfície em contato com o cimento, a cápsula apresentava-se mais espessa e organizada com fibroblastos dispostos paralelamente à superfície do cimento e das fibras colágenas, poucos espaços das outras estruturas, moderada quantidade de vasos sangüíneos calibrosos e capilares e ainda, raras células inflamatórias (Fig.36 A).

O quadro histológico da subcápsula apresentou poucas fibras evidenciando um tecido

conjuntivo frouxo, com poucos fibroblastos e grande quantidade de Substância Fundamental Amorfa. Observaram-se também vasos sanguíneos mais numerosos e calibrosos, e raras células inflamatórias (Fig. 36 B).

5.1.1.1.5- Guta-percha (controle)

No lado do tubo utilizado como controle, a cápsula mostrou-se mais organizada em relação ao grupo do clínquer do cimento Portland, acrescido ou não com sulfato de cálcio e CPM. No grupo controle, as fibras colágenas apresentavam-se mais espessas, com muitos fibroblastos dispostos entre as fibras e exibindo núcleos afilados e alguns arredondados, além de muitos capilares e poucos espaços vazios, representando áreas de Substância Intercelular Amorfa. Na região mais interna da cápsula, observaram-se algumas células inflamatórias, principalmente, linfócitos (Fig. 37 A).

A subcápsula mostrou poucas fibras colágenas, vários espaços entre as fibras, poucos fibroblastos, vasos sanguíneos bem delimitados com vasos sanguíneos espessos e raras células inflamatórias (Fig. 37 B).

5.1.1.2 - Período de 30 dias

5.1.1.2.1 - Clínquer do cimento Portland puro

O quadro histológico mostrou-se semelhante ao período de 15 dias, porém mais organizado, ou seja, na extremidade que continha o material testado, a cápsula apresentava-se mais espessa com fibras colágenas arranjadas paralelamente ao cimento, contendo poucos fibroblastos e raríssimas células inflamatórias, predominantemente, macrófagos. Neste período, as fibras colágenas estavam mais espessas e os vasos sanguíneos menos numerosos em relação ao período anterior e menores espaços vazios, indicando maior grau de organização tecidual (Fig.38 A).

A subcápsula apresentou fibras melhor arranjadas paralelamente, poucos fibroblastos mais alongados, raríssimas células inflamatórias, presença de vasos sanguíneos melhor definidos e discreta diminuição das quantidades de outras estruturas (Fig.38 B).

5.1.1.2.2- Clínquer do cimento Portland acrescido com 2% de Sulfato de Cálcio

O quadro histológico mostrou a presença de cápsula fibrosa densa, rica em fibras

colágenas dispostas paralelamente à superfície do cimento e menor quantidade de fibroblastos, poucos espaços vazios, raríssimas células inflamatórias e poucos vasos sanguíneos (Fig.39 A).

No quadro histológico da subcápsula, verificou-se a presença de vasos sanguíneos, maiores quantidades de fibras colágenas, poucos fibroblastos, menores quantidades de outras estruturas (SFA) e raríssimas células inflamatórias (Fig.39 B).

5.1.1.2.3 - Clínquer do cimento Portland acrescido com 5% de Sulfato de Cálcio

Neste período, a cápsula adjacente à superfície do cimento mostrou-se mais fibrosa, deixando poucos espaços para Substância Fundamental Amorfa e com menor quantidade de fibroblastos em relação ao período anterior, raríssimas células inflamatórias, poucos fibroblastos alongados e poucos vasos sanguíneos (fig. 40 A).

Na subcápsula tecido mais organizado e fibroso, com poucos fibroblastos, vasos sanguíneos distribuídos pelo tecido, raríssimas células inflamatórias e menor quantidade de outras estruturas comparada ao período de 15 dias (Fig. 40 B).

5.1.1.2.4 - CPM

O quadro histomorfológico da cápsula fibrosa do CPM aos 30 dias apresentou redução do processo inflamatório, além de maior reorganização tecidual, em relação ao período anterior de 15 dias. Neste caso, a cápsula mostrou-se com fibras colágenas mais espessas e organizadas paralelamente à superfície do cimento, e poucos vasos sanguíneos. Os fibroblastos se mostravam dispostos paralelamente às fibras colágenas, exibindo núcleos delgados, alongados e heterocromáticos indicando baixa atividade celular e menor porcentagem de outras estruturas (SFA) entre as fibras (Fig.41 A).

A subcápsula apresentou maior quantidade de fibras colágenas melhor arranjadas paralelamente, porém um aumento ainda discreto, menor quantidade de outras estruturas (SFA) ou espaços, alguns capilares sanguíneos, poucos fibroblastos e raras células inflamatórias (Fig.41 B).

5.1.1.2.5 - Guta-percha (controle)

A cápsula fibrosa mostrou-se mais organizada e mais espessa em relação ao período anterior, composta por densas e compactas fibras colágenas dispostas paralelamente ao material e muitos capilares distribuídos em diversas áreas da cápsula. Já, os fibroblastos mostraram-se menos numerosos e dispostos paralelamente às fibras colágenas com núcleo delgado, alongado e heterocromático, indicando baixa atividade celular, pouquíssimas células inflamatórias e espaços

vazios (SFA) e ainda alguns pequenos vasos sanguíneos (Fig.42 A).

A subcápsula na região da guta-percha apresentou vasos bem organizados e distribuídos pelo tecido, maior quantidade de fibras colágenas melhor organizadas, poucos fibroblastos mais alongados, raríssimas células inflamatórias e menores quantidades de outras estruturas evidenciando o melhor padrão de organização das fibras com o decorrer do tempo (Fig.42 B).

5.1.1.3 - Período de 60 dias

5.1.1.3.1 - Clínquer do cimento Portland puro

O tecido da cápsula apresentou uma estrutura com fibras espessas posicionadas paralelas à superfície do cimento com poucos, fibroblastos pequenos e alongados, pouca visualização de outras estruturas, diminuição na quantidade e tamanho dos vasos sanguíneos e praticamente ausência de células inflamatórias (Fig.43 A).

Na subcápsula as fibras estavam mais alongadas e mais espessas, dispostas paralelamente à superfície do cimento, poucos fibroblastos bastante alongados e finos, menores quantidades de vasos sanguíneos e outras estruturas, bem como praticamente ausência de células inflamatórias (Fig.43 B).

5.1.1.3.2 - Clínquer do cimento Portland acrescido com 2% de Sulfato de Cálcio

O quadro histológico mostrou-se semelhante ao do período anterior, mas a cápsula estava mais densa, rica em fibras colágenas dispostas paralelamente à superfície do cimento, poucos fibroblastos alongados, raras células inflamatórias, poucos espaços vazios (SFA) e poucos vasos sanguíneos (Fig.44 A).

A subcápsula apresentou muitas fibras dispostas paralelas à superfície do material, poucos fibroblastos, menores quantidades de vasos sanguíneos e espaços vazios (SFA) e pouquíssimas células inflamatórias (Fig.44 B).

5.1.1.3.3 - Clínquer do cimento Portland acrescido com 5% de Sulfato de Cálcio

Neste período, a cápsula adjacente à superfície do cimento estava mais fibrosa e com menor quantidade de fibroblastos em relação ao período anterior e poucos capilares, alguns espaços vazios (SFA) e raras células inflamatórias (Fig.45 A).

A subcápsula apresentou as fibras colágenas mais espessas e alinhadas à superfície do

cimento, raríssimas células inflamatórias, menores espaços vazios, alguns vasos sanguíneos e poucos fibroblastos alongados evidenciando uma melhor organização tecidual (Fig.45 B).

5.1.1.3.4 - CPM

O grupo do CPM neste período mostrou fibras colágenas também bem delimitadas e densas permeadas por poucos fibroblastos alongados, algumas outras estruturas, alguns poucos vasos e raríssimas células inflamatórias (Fig. 46 A).

Na região da subcápsula, novamente se apresentou com fibras alongadas e mais densas, com poucos fibroblastos mais alongados, espaços vazios diminuídos e pouquíssimas células inflamatórias e raros capilares (Fig. 46 B).

5.1.1.3.5 - Guta-percha (controle)

A cápsula fibrosa mostrou-se mais organizada e mais espessa em relação ao período anterior, composta por densas e compactas fibras colágenas dispostas paralelamente ao material e poucos vasos sanguíneos, os fibroblastos se mostraram menos numerosos e dispostos paralelamente às fibras colágenas com núcleo delgado, alongado e heterocromático, indicando baixa atividade celular e foi constatado, praticamente, ausência de células inflamatórias e poucas outras estruturas (Fig.47 A).

Na subcápsula foi constatada semelhança do grupo controle aos demais cimentos com fibras colágenas mais densas, vasos sanguíneos permeando o tecido, baixo conteúdo de fibroblastos e menores quantidades de espaços vazios e raríssimas células inflamatórias (Fig. 47 B).

Figura 33 - Clínquer puro, período de 15 dias da implantação. Observar na cápsula (A) fibras colágenas (F), vários fibroblastos (setas vermelhas) dispersos aleatoriamente, vasos sanguíneos (setas pretas) e outras estruturas (asteriscos); na subcápsula (B) poucas fibras colágenas e fibroblastos, vasos sanguíneos mais calibrosos, presença marcante de outras estruturas, representadas principalmente pelos espaços ocupados pela Substância Intercelular Amorfa e poucas células inflamatórias (setas verdes). HE. Aumento original de 40X.

Figura 34 - Clínquer + 2% de Sulfato de Cálcio, período de 15 dias . Observar na cápsula (A) fibras colágenas (F), vários fibroblastos (setas vermelhas) dispersos aleatoriamente, vasos sanguíneos calibrosos (setas pretas), outras estruturas (asteriscos) e poucas células inflamatórias (setas verdes); na subcápsula (B) poucas fibras colágenas dispersas e fibroblastos. Vasos sanguíneos e presença marcante de outras estruturas, e presença de poucas células inflamatórias. HE. Aumento original de 40X.

Figura 35 - Clínquer + 5% de Sulfato de Cálcio, período de 15 dias. Observar na cápsula (A) presença de fibras colágenas (F), vários fibroblastos arredondados (setas vermelhas) dispersos aleatoriamente, vasos sanguíneos (setas pretas) e outras estruturas (asteriscos) e poucas células inflamatórias (setas verdes); na subcápsula (B) poucas fibras colágenas, fibroblastos, vasos sanguíneos e outras estruturas e poucas células inflamatórias. HE. Aumento original de 40X.

Figura 36 - CPM, período de 15 dias. Observar na cápsula (A) presença de fibras colágenas (F), vários fibroblastos (setas vermelhas) relativamente organizados, vasos sanguíneos (setas pretas), outras estruturas (asteriscos) e poucas células inflamatórias (setas verdes); na subcápsula (B) poucas fibras colágenas e fibroblastos, vasos sanguíneos calibrosos, presença de outras estruturas e poucas células inflamatórias. HE. Aumento original de 40X.

Figura 37 - Controle (Guta-percha), período de 15 dias. Observar na cápsula (A) presença de fibras colágenas (F) relativamente organizadas, vários fibroblastos (setas vermelhas) dispersos aleatoriamente, pequenos vasos sanguíneos (setas pretas), outras estruturas (asteriscos) e poucas células inflamatórias (setas verdes); na subcápsula (B) poucas fibras colágenas e fibroblastos, alguns vasos sanguíneos, outras estruturas e baixa quantidade de células inflamatórias. HE. Aumento original de 40X.

Figura 38 - Clínquer puro, período de 30 dias da implantação. Observar na cápsula (A) presença de fibras colágenas (F) melhor organizadas, poucos fibroblastos (setas vermelhas) mais alongados, e outras estruturas (asteriscos); na subcápsula (B) fibras colágenas mais organizadas e poucos fibroblastos, amplos vasos sanguíneos (setas pretas) e presença de menor quantidade de outras estruturas comparadas ao período de 15 dias. HE. Aumento original de 40X.

Figura 39 - Clínquer + 2% de Sulfato de Cálcio, período de 30 dias da implantação. Observar na cápsula (A) presença de fibras colágenas (F) e poucos fibroblastos (setas vermelhas) mais organizados e alongados, discreta quantidade de outras estruturas (asteriscos) e poucos vasos (setas pretas); na subcápsula (B) fibras colágenas e fibroblastos mais organizados, vasos sanguíneos, presença de menor quantidade de outras estruturas e raras células inflamatórias (seta verde). HE. Aumento original de 40X.

Figura 40 – Clínquer + 5% Sulfato de Cálcio, período de 30 dias. Observar na cápsula (A) presença de fibras colágenas (F) mais densas e organizadas, poucos fibroblastos (setas vermelhas) e outras estruturas (asteriscos); na subcápsula (B) fibras colágenas mais desenvolvidas e alguns fibroblastos, vasos sanguíneos (setas pretas) e presença de outras estruturas, representadas principalmente pelos espaços ocupados pela Substância Intercelular Amorfa. HE. Aumento original de 40X.

Figura 41 - CPM, no período de 30 dias. Observar na cápsula (A) presença de fibras colágenas (F) mais densas e organizadas, poucos fibroblastos (setas vermelhas) mais alongados, e outras estruturas (asteriscos), raras células inflamatórias (seta verde); na subcápsula (B) fibras colágenas mais numerosas e alguns fibroblastos, pequenos vasos sanguíneos (setas pretas) e presença de outras estruturas, representadas principalmente pelos espaços ocupados pela Substância Intercelular amorfa. HE. Aumento original de 40X.

Figura 42 - Controle, período de 30 dias. Observar na cápsula (A) presença de fibras colágenas (F) organizadas, poucos fibroblastos (setas vermelhas) alongados, e outras estruturas (asteriscos) e pequenos vasos sanguíneos (setas pretas); na subcápsula (B) fibras colágenas mais numerosas e alguns fibroblastos, vasos sanguíneos e presença moderada de outras estruturas. HE. Aumento original de 40X.

Figura 43 - Clínquer puro, período de 60 dias da implantação. Observar na cápsula (A) presença de fibras colágenas (F) mais densas organizadas, poucos fibroblastos (setas vermelhas) alongados, e outras estruturas (asteriscos) poucos e pequenos vasos (setas pretas); na subcápsula (B) fibras colágenas mais numerosas e organizadas e alguns fibroblastos alongados, vasos sanguíneos de pequeno porte e menor quantidade de outras estruturas. HE. Aumento original de 40X.

Figura 44 - Clínquer + 2% de Sulfato de Cálcio, período de 60 dias da implantação. Observar na cápsula (A) presença de fibras colágenas (F) mais densas e organizadas, poucos fibroblastos (setas vermelhas) alongados, poucas outras estruturas (asteriscos) e raras células inflamatórias (seta verde); na subcápsula (B) fibras colágenas mais numerosas e organizadas e poucos fibroblastos alongados, vasos sanguíneos (seta preta) e menor quantidade de outras estruturas. HE. Aumento original de 40X.

Figura 45 - Clínquer + 5% de Sulfato de Cálcio, período de 60 dias da implantação. Observar na cápsula (A) presença de densas fibras colágenas (F), poucos fibroblastos (setas vermelhas) mais organizados e alongados, e outras estruturas (asteriscos) e alguns vasos sanguíneos (setas pretas); na subcápsula (B) fibras colágenas mais organizadas e densas, poucos fibroblastos alongados, vasos sanguíneos, menor quantidade de outras estruturas e raras células inflamatórias (seta verde). HE. Aumento original de 40X.

Figura 46 - CPM, período de 60 dias da implantação. Observar na cápsula (A) presença de numerosas fibras colágenas (F), poucos fibroblastos (setas vermelhas) mais organizados e alongados, e outras estruturas (asteriscos); na subcápsula (B) fibras colágenas mais organizadas, poucos fibroblastos alongados, vasos sanguíneos (seta preta) e menor quantidade de outras estruturas. HE. Aumento original de 40X.

Figura 47 - Controle, período de 60 dias da implantação. Observar na cápsula (A) presença de numerosas fibras colágenas (F) organizadas, poucos fibroblastos (setas vermelhas) mais organizados e alongados, e outras estruturas (asteriscos) e pequenos vasos sanguíneos (setas pretas); na subcápsula (B) fibras colágenas mais densas e organizadas, poucos fibroblastos, vasos sanguíneos maiores, menor quantidade de outras estruturas e raras células inflamatórias (seta verde). HE. Aumento original de 40X.

5.1.2 Avaliação morfométrica da região de tecido reacional para densidade de volume de fibras colágenas, fibroblastos, células inflamatórias, vasos sanguíneos e outras estruturas presentes na região de cápsula e subcápsula

Os dados obtidos para a densidade de volume (%) de fibras, fibroblastos, células inflamatórias, vasos sanguíneos e de outras componentes encontrados no tecido conjuntivo reacional adjacente à superfície do material implantado, nos diferentes períodos experimentais encontram-se dispostos nas tabelas I e II, e nos gráficos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10.

Tabela I – Média e desvio padrão da densidade de volume (%) de fibras, fibroblastos, células inflamatórias, vasos sanguíneos e de outros componentes encontrados no tecido conjuntivo reacional da **CÁPSULA** adjacente à superfície do material implantado, em resposta aos materiais testados nos três períodos de avaliação.

	15 dias	30 dias	60 dias
CPM			
Fibras	77,28 ± 3,905	84,91 ± 1,782	90,79 ± 1,723
Fibroblastos	10,25 ± 1,947	7,41 ± 1,777	4,44 ± 1,366
Céls. Inflamatórias	0,40 ± 0,264	0,21 ± 0,141	0,19 ± 0,15
Vasos	2,02 ± 0,513	1,46 ± 0,993	0,75 ± 0,321
Outros	10,05 ± 3,053	6,01 ± 2,415	3,83 ± 0,973
Clínquer Puro			
Fibras	78,03 ± 3,761	86,19 ± 3,007	90,13 ± 1,412
Fibroblastos	11,52 ± 2,227	6,04 ± 0,905	4,46 ± 1,380
Céls. Inflamatórias	0,59 ± 0,335	0,15 ± 0,114	0,17 ± 0,135
Vasos	2,89 ± 0,913	1,08 ± 0,601	0,72 ± 0,0659
Outros	6,96 ± 3,199	6,56 ± 3,237	4,52 ± 1,05
Clínquer 2%			
Fibras	79,85 ± 3,761	86,11 ± 2,102	91,96 ± 0,912
Fibroblastos	10,00 ± 1,988	7,15 ± 2,221	4,44 ± 0,520
Céls. Inflamatórias	0,30 ± 0,184	0,29 ± 0,114	0,180 ± 0,166
Vasos	2,37 ± 1,408	1,41 ± 0,232	0,63 ± 0,17
Outros	7,48 ± 3,556	5,04 ± 3,339	4,41 ± 1,018
Clínquer 5%			
Fibras	79,79 ± 3,367	85,19 ± 2,30	91,78 ± 2,043
Fibroblastos	9,52 ± 2,50	7,43 ± 0,606	4,44 ± 0,861
Céls. Inflamatórias	0,47 ± 0,276	0,33 ± 0,12	0,18 ± 0,09
Vasos	3,15 ± 1,336	1,55 ± 0,701	0,59 ± 0,185
Outros	7,07 ± 4,003	5,52 ± 1,944	2,74 ± 2,199
Controle			
Fibras	82,35 ± 2,949	89,69 ± 2,849	92,26 ± 0,551
Fibroblastos	8,22 ± 0,575	6,14 ± 1,258	4,13 ± 0,284
Céls. Inflamatórias	0,32 ± 0,113	0,20 ± 0,058	0,19 ± 0,089
Vasos	2,62 ± 1,641	0,95 ± 0,52	1,05 ± 0,395
Outros	6,47 ± 1,442	3,01 ± 1,828	2,36 ± 0,369

Tabela II – Média e desvio padrão da densidade de volume (%) de fibras, fibroblastos, células inflamatórias, vasos sanguíneos e de outros componentes encontrados no tecido conjuntivo reacional da **SUBCÁPSULA** subjacente à superfície do material implantado, em resposta aos materiais testados nos três períodos de avaliação.

	15 dias	30 dias	60 dias
CPM			
Fibras	29,56 ± 5,548	41,5 ± 1,23	49,98 ± 1,272
Fibroblastos	4,39 ± 1,217	2,60 ± 1,295	0,84 ± 0,273
Céls. Inflamatórias	0,15 ± 0,24	0,37 ± 0,115	0,18 ± 0,156
Vasos	1,77 ± 1,414	1,22 ± 0,54	1,05 ± 0,326
Outros	64,13 ± 6,664	54,31 ± 1,687	47,94 ± 1,434
Clínquer Puro			
Fibras	30,34 ± 5,496	38,89 ± 5,112	46,47 ± 4,045
Fibroblastos	3,85 ± 0,99	2,15 ± 1,039	1,06 ± 0,261
Céls. Inflamatórias	0,41 ± 0,327	0,30 ± 0,181	0,15 ± 0,091
Vasos	1,81 ± 0,128	1,00 ± 0,306	0,78 ± 0,306
Outros	63,59 ± 7,114	57,66 ± 4,699	51,56 ± 3,986
Clínquer 2%			
Fibras	29,33 ± 4,506	36,59 ± 5,628	45,63 ± 1,594
Fibroblastos	3,48 ± 1,076	2,74 ± 1,104	0,74 ± 0,181
Céls. Inflamatórias	0,37 ± 0,23	0,37 ± 0,115	0,30 ± 0,181
Vasos	1,89 ± 1,049	1,44 ± 0,625	0,67 ± 0,344
Outros	64,93 ± 5,1	58,85 ± 5,205	52,67 ± 1,663
Clínquer 5%			
Fibras	32,39 ± 6,562	43,13 ± 7,241	48,19 ± 3,974
Fibroblastos	4,22 ± 1,778	2,83 ± 1,121	1,33 ± 0,526
Céls. Inflamatórias	0,67 ± 0,314	0,26 ± 0,167	0,22 ± 0,199
Vasos	1,91 ± 0,764	1,67 ± 0,482	0,85 ± 0,295
Outros	60,82 ± 5,567	52,11 ± 6,358	49,41 ± 4,244
Controle			
Fibras	36,73 ± 10,456	41,13 ± 2,769	49,81 ± 2,584
Fibroblastos	3,22 ± 1,235	1,63 ± 0,622	1,15 ± 0,027
Céls. Inflamatórias	0,30 ± 0,171	0,25 ± 0,139	0,27 ± 0,047
Vasos	1,77 ± 0,501	0,95 ± 0,421	0,85 ± 0,301
Outros	57,99 ± 8,945	55,69 ± 2,311	47,93 ± 2,859

Gráfico 1 - Densidade de volume (%) das fibras (cápsula) encontradas no tecido conjuntivo reacional adjacente à superfície do material implantado. Barras = Desvio padrão da média; Comparação entre períodos do mesmo material (letras iguais $p<0,05$); e comparação entre materiais no mesmo período (símbolos iguais).

Gráfico 2 - Densidade de volume (%) de fibroblastos (cápsula) encontrados no tecido conjuntivo reacional adjacente à superfície do material implantado. Barras = Desvio padrão da média; Comparação entre períodos do mesmo material (letras iguais $p<0,05$); e comparação entre materiais no mesmo período (símbolos iguais).

Gráfico 3 - Densidade de volume (%) de vasos sanguíneos (cápsula) encontrados no tecido conjuntivo reacional adjacente à superfície do material implantado. Barras = Desvio padrão da média; Comparação entre períodos do mesmo material (letras iguais $p < 0,05$); e comparação entre materiais no mesmo período (símbolos iguais).

Gráfico 4 - Densidade de volume (%) de células inflamatórias (cápsula) encontradas no tecido conjuntivo reacional adjacente à superfície do material implantado. Barras = Desvio padrão da média; comparação entre períodos do mesmo material (letras iguais $p < 0,05$); e comparação entre materiais no mesmo período (símbolos iguais).

Gráfico 5 - Densidade de volume (%) de outras estruturas encontradas no tecido conjuntivo reacional adjacente à superfície do material implantado. Barras = Desvio padrão da média; Comparação entre períodos do mesmo material (letras iguais $p<0,05$); e comparação entre materiais no mesmo período (símbolos iguais).

Gráfico 6 - Densidade de volume (%) das fibras (subcápsula) encontradas no tecido conjuntivo reacional adjacente à superfície do material implantado. Barras = Desvio padrão da média; Comparação entre períodos do mesmo material (letras iguais $p<0,05$); e comparação entre materiais no mesmo período (símbolos iguais).

Gráfico 7 - Densidade de volume (%) dos fibroblastos (subcápsula) encontrados no tecido conjuntivo reacional adjacente à superfície do material implantado. Barras = Desvio padrão da média; Comparação entre períodos do mesmo material (letras iguais $p < 0,05$); e comparação entre materiais no mesmo período (símbolos iguais).

Gráfico 8 - Densidade de volume (%) de vasos sanguíneos (subcápsula) encontrados no tecido conjuntivo reacional adjacente à superfície do material implantado. Barras = Desvio padrão da média; Comparação entre períodos do mesmo material (letras iguais $p < 0,05$); e comparação entre materiais no mesmo período (símbolos iguais).

Gráfico 9 - Densidade de volume (%) de células inflamatórias (subcápsula) encontradas no tecido conjuntivo reacional adjacente à superfície do material implantado. Barras = Desvio padrão da média; Comparação entre períodos do mesmo material (letras iguais $p < 0,05$); e comparação entre materiais no mesmo período (símbolos iguais).

Gráfico 10 - Densidade de volume (%) de outras estruturas (subcápsula) encontradas no tecido conjuntivo reacional adjacente à superfície do material implantado. Barras = Desvio padrão da média; Comparação entre períodos do mesmo material (letras iguais $p < 0,05$); e comparação entre materiais no mesmo período (símbolos iguais).

Os valores em densidade de volume (%) de cada animal se encontra no APÊNDICE B.

A análise das tabelas I e dos Gráficos 1, 2, 3, 4 e 5 juntamente com a análise estatística dos dados mostrou que na cápsula:

5.1.2.1 Fibras colágenas da cápsula

A densidade de volume das fibras colágenas aos 15 dias do grupo controle foi a maior 82,35% não apresentando diferenças estatisticamente significantes entre todos os materiais porque o CPM, clínquer puro, clínquer acrescido de 2% de sulfato de cálcio e o clínquer acrescido de 5% e sulfato de cálcio foram, respectivamente, 1,065, 1,055, 1,031 e 1,032 vezes menor em relação ao controle. O clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio foi o que apresentou a maior porcentagem entre todos os cimentos neste período (79,85%), sendo 1,033, 1,023, e 1,000 vezes maior em relação ao CPM, clínquer puro, clínquer a 5% respectivamente onde não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre eles. No período de 30 dias, a densidade de volume das fibras colágenas não apresentou diferenças estatisticamente significantes entre os materiais; todos os grupos aumentaram a quantidade de fibras e o grupo controle continuou com a porcentagem maior (89,69%). Já aos 60 dias, nenhuma diferença estatisticamente significativa foi visualizada entre os materiais e o grupo controle continuou maior (92,26 %), seguido pelo clínquer a 2% (91,96 %), clínquer a 5% (91,78%), CPM (90,79%) e o clínquer puro (90,13%).

Na comparação entre os períodos não existiu diferença de 15 para 30 dias apenas no grupo do clínquer a 5%. Assim o clínquer puro aumentou 1,104 vezes, CPM (1,098), clínquer a 2% (1,078), e o grupo controle 1,089 vezes. No período de 15 para 60 dias houve diferença estatisticamente significativa em todos os materiais e aumentaram em 1,174 para o CPM, 1,155 para o clínquer puro, 1,151 para o clínquer a 2%, 1,150 para o clínquer a 5% e no grupo controle aumentou 1,120 vezes. No período de 30 para 60 dias houve diferença estatisticamente significativa apenas no clínquer a 2% que aumentou 1,067 e no a 5% que aumentou 1,077 vezes.

5.1.2.2 Fibroblastos da cápsula

A porcentagem dos fibroblastos no período de 15 dias no grupo controle foi de 8,22%,

número este que aumentou quando se tratou dos cimentos, porém sem diferença estatisticamente significativa entre os materiais com valores de 9,52% para o clínquer a 5%, 10% para o clínquer a 2%, 10,25% para o CPM, e 11,52% para o clínquer puro. No período de 30 dias, o clínquer puro apresentou a menor densidade de volume dos fibroblastos (6,04%) seguido pelo grupo controle com 6,14%, clínquer acrescido de 2% de sulfato de cálcio (7,15%), CPM (7,41%) e finalmente o clínquer a 5% com 7,45%, todos sem diferença estatística significativa entre os materiais. Já no período de 60 dias, os grupos CPM, clínquer a 2% e o clínquer a 5% obtiveram mesmo valor de 4,44%, o clínquer puro obteve média de 4,46% e o controle apresentou-se menor em relação a todos os cimentos testes com 4,13%.

Na comparação entre os períodos, observou-se diferença significativa no CPM e clínquer puro para o período de 15 e 30 dias onde foi 1,907 menor no clínquer puro e 1,383 para o CPM. Para o período de 15 e 60 dias houve diferença em todos os materiais, ou seja um decréscimo de 2,308 vezes para o CPM, 2,582 vezes menor para o clínquer puro, 2,252 para o clínquer a 2%, 2,144 para o clínquer a 5% e finalmente o decréscimo de 1,990 vezes para o controle. Quanto a diferença de 30 e 60 dias somente apresentaram diferença o clínquer a 2% que diminuiu 1,610 vezes e o clínquer a 5% que diminuiu 1,673 vezes.

5.1.2.3 Células inflamatórias na cápsula

A densidade de volume das células inflamatórias no período de 15 dias foi de 0,59% para o clínquer puro, seguido de 0,47% no clínquer 5%, 0,40% no CPM, 0,32% no controle e 0,30% no clínquer 2%, sem diferença estatisticamente significativa entre os materiais. No período de 30 dias, a porcentagem de células inflamatórias caiu ainda mais e a maior média foi obtida pelo clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio (0,33%), também não apresentando diferença entre os materiais. No período de 60 dias maiores valores de 0,19% foram para o grupo controle e CPM e também não existiu diferença significativa entre nenhum dos materiais. Em relação aos períodos experimentais, observou-se diferença estatisticamente significativa no grupo do clínquer puro de 15 para 60 dias onde houve um decréscimo de 3,470 vezes.

5.1.2.4 Vasos Sanguíneos da cápsula

A porcentagem de volume dos vasos sanguíneos diminuiu em todos os materiais; no período de 15 dias foi maior no grupo do clínquer a 5% (3,15%), não apresentando diferença estatisticamente significativa em relação aos demais materiais que obtiveram médias de 2,02% para o CPM, 2,89% para o clínquer puro, 2,37% para o clínquer 2% e 2,62% para o grupo controle. No período de 30 dias, o clínquer com 5% de sulfato de cálcio novamente apresentou a maior densidade de volume dos vasos (1,55%), mas também não existiu diferença entre os

materiais. Em ordem decrescente seguiram o CPM com 1,46%, o clínquer a 2% (1,41%), o clínquer puro (1,08%) e finalmente o grupo controle (0,95%). No período de 60 dias, o grupo controle apresentou a maior porcentagem de vasos sanguíneos (1,05%), seguido pelo CPM com 0,75%, clínquer puro (0,72%), clínquer a 2% (0,63%) e por último clínquer a 5% com 0,59% sem diferença entre os grupos. Em relação aos períodos de 15 para 30 dias houve diferença estatística apenas no grupo do clínquer puro que diminuiu 2,675 vezes. Em relação ao período de 15 para 60 dias todos apresentaram diferenças entre si o CPM diminuiu 2,693 vezes, o clínquer puro 4,013 vezes, clínquer a 2% diminuiu 3,761 vezes, o clínquer a 5% (5,338) e finalmente o grupo controle 2,495 vezes. Com relação a significância no período de 30 para 60 dias apenas foi notado no clínquer a 2% e 5%, respectivamente 2,238 e 2,627 vezes.

5.1.2.5 Outras estruturas da cápsula

Quanto a densidade de volume dos outros componentes encontrados no tecido conjuntivo reacional observou-se que o CPM, apresentou a maior porcentagem (10,05%), seguido pelo clínquer a 2% 7,48%, o clínquer a 5% (7,07%), o clínquer puro (6,96%) e finalmente o grupo controle que obteve média de 6,47%. No período de 30 dias, o clínquer puro foi o que apresentou a maior média de 6,56%, seguido pelo CPM (6,01%), clínquer a 5% que obteve média 5,52%, clínquer a 2% com 5,04% e o grupo controle com 3,01%. Em relação ao período de 60 dias, a maior densidade de volume dos outros componentes encontrados no tecido conjuntivo reacional foi dado pelo clínquer puro com 4,52%, clínquer a 2% com 4,41%, CPM (3,83%), clínquer a 5% com 2,74% e por ultimo o controle com 2,36%. Nenhum apresentou diferença estatisticamente significativa entre os materiais. Com relação aos períodos, apenas o grupo da guta-percha apresentou diferença estatisticamente significativa para o período de 15 e 60 dias com um decréscimo de 2,741 vezes.

A análise da tabela II e dos gráficos 6, 7, 8, 9 e 10 juntamente com a análise estatística dos dados mostrou que os dados da subcápsula são:

5.1.2.6 Fibras colágenas na cápsula

A densidade de volume das fibras colágenas na região da subcápsula se apresentou maior no grupo controle com 36,76%, seguido pelo clínquer a 5% com 32,39%, clínquer puro 30,34%, CPM com 29,56% e finalmente o clínquer a 2% com 29,33%. Nenhum apresentou diferença estatisticamente significativa em relação aos materiais. No período de trinta dias o comportamento foi de aumento das fibras para todos os materiais continuando sem diferença estatisticamente significativa com o maior valor ficando com o clínquer a 5% (43,13%), seguindo

pelo CPM (41,50%), controle (41,13%), clínquer puro (38,89) e o com menor números de fibras foi o clínquer a 2%(36,59%). No período de 60 dias o maior índice de fibras ficou com o CPM (49,89%), seguido pelo controle com 49,81%, clínquer a 5% com 48,19%, clínquer puro 46,47% e por último o clínquer a 2% com 45,63%. Em relação à diferença estatisticamente significativa entre os períodos de 15 para 30 dias ocorreu para CPM, clínquer a 2% e clínquer a 5% onde as fibras aumentaram respectivamente 1,403, 1,247, 1,331. Para o período de 15 para 60 dias ocorreu diferença em todos os matérias o CPM aumentou 1,690 vezes, o clínquer puro 1,531, clínquer acrescido de 2% de sulfato de cálcio 1,555, clínquer a 5% 1,487 e o controle 1,356 vezes. Do período de 30 para 60 dias houve diferença no clínquer a 2% que aumentou 1,247, clínquer a 5% onde o aumento foi de 1,117 vezes, CPM 1,204 vezes e a guta-percha 1,211 vezes.

5.1.2.7 Fibroblastos da subcápsula

Em relação aos fibroblastos da subcápsula o maior valor encontrado para o período de 15 dias foi o CPM (4,39%), seguido pelo clínquer a 5% (4,22%), clínquer puro (3,85%) , clínquer a 2% (3,48%), e o grupo controle (3,22%) sem apresentar diferença estatística para os materiais. No período de 30 dias os fibroblastos caíram e o maior índice ficou com o grupo do clínquer a 5% (2,83%), clínquer a 2% (2,74%), CPM (2,60%), clínquer puro (2,15%), e o controle com o menor valor de 1,63% onde também não foi constatada diferença entre os materiais, no período de 60 dias. O controle apresentou o maior numero de fibroblastos (1,15%), seguido pelo clínquer a 5% com 1,33%, clínquer puro (1,06%), CPM (0,84%) e o clínquer a 2% com 0,74% onde não houve diferença estatisticamente significativa. Para a comparação de significância entre os períodos de 15 e 30 dias houve diferença apenas para o grupo do CPM que foi de 1,688 vezes. Para o período de 15 e 60 dias houve diferença entre todos os materiais no CPM o decréscimo no número de fibroblastos foi de 5,226 vezes, para o clínquer puro 3,632 vezes, para o clínquer a 2% 4,702 vezes, clínquer a 5% (3,172) e o grupo controle foi menor 2,800 vezes. No período de 30 para 60 dias não houve diferença.

5.1.2.8 Células inflamatórias da subcápsula

Na densidade de células inflamatórias na subcápsula o CPM obteve média de 0,15%, enquanto que os demais materiais apresentaram em ordem crescente os seguintes valores: controle (0,30%), clínquer a 2% (0,37%), clínquer puro (0,41%) e o clínquer a 5% apresentou 0,67% de células inflamatórias. O CPM apresentou diferença estatisticamente significativa de todos os outros materiais no período de 15 dias e ficou 2,733 vezes menor que o clínquer puro,

2,466 vezes menor que o clínquer a 2%, 4,466 vezes menor que o clínquer a 5% e 2,000 vezes menor que o controle. Não existiu diferença entre os outros materiais nos outros períodos e também não existiu nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os períodos avaliados.

5.1.2.9 Vasos sanguíneos da subcápsula

A densidade de vasos sanguíneos se mostrou decrescente em relação aos períodos e a maior média ficou com o clínquer a 5% (1,91%) e a menor média (1,77 %) para os grupos CPM e controle em 15 dias; já aos 30 dias as médias caíram suavemente, a maior com o clínquer a 5% de (1,67%) e a menor de (0,95%) com o controle e no período de 60 dias a maior media esteve com CPM (1,05%) e a menor (0,67%) para o clínquer a 2%. Os valores foram bastante próximos e não apresentaram diferença estatística entre eles. Em relação aos períodos também não foi encontrada diferença estatística.

5.1.2.10 Outras estruturas na subcápsula

As outras estruturas da cápsula apresentaram valores que foram decrescendo com o decorrer do tempo. O menor valor encontrado para o período de 15 dias ficou com o grupo controle de 57,99% e foi aumentando para 60,82% no clínquer a 5%, 63,59% para o clínquer puro, 64,13% para o CPM, 64,93% para o clínquer a 2%. Para o período de 30 dias os valores foram diminuindo 58,85% para o clínquer 2%, 57,66% para o clínquer puro, 55,69% para o controle, 54,31% para o CPM, e o clínquer a 5% 52,11%. Para 60 dias, o menor valor ficou com o controle (47,93%), CPM (47,94%), clínquer a 5% (49,41%), clínquer puro (51,56%), e o clínquer a 2% (52,67%). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os materiais. Em relação aos períodos de 15 para 30 dias não houve diferença. De 15 para 60 dias ocorreu diferença no clínquer a 2% que foi de 1,232 vezes menor, clínquer 5% que diminuiu 1,230, CPM que diminuiu 1,337 vezes e o controle 1,209 vezes. Em relação ao período de 30 e 60 dias não ocorreu diferença estatisticamente significativa.

5.2 - Do tempo de presa

Valores correspondentes ao tempo de presa inicial, tempo de presa final bem como suas médias encontram-se dispostos na Tabela III.

Tabela III - Médias dos tempos de presa Inicial e Final – valores expressos em minutos (') e segundos (")

Material	Tempo de Presa Inicial	Tempo de Presa Final
CPM - 1	17' 05''	28'50''
CPM - 2	14'30''	25'00''
CPM - 3	15'10''	29'50''
Média CPM	15'01''	27'36''
CLQ - 1	7'30''	20'15''
CLQ - 2	6'05''	21'15''
CLQ- 3	5'45''	24'00''
Média CLQ	6'18''	21'48''
CLQ + 2% CaSO₄ . 1	8'00''	24'30''
CLQ + 2% CaSO₄ . 2	10'15''	25'00''
CLQ + 2% CaSO₄ . 3	9'52''	27'12''
Média 2%	9'22''	25'33''
CLQ + 5% CaSO₄ - 1	11'15''	40'10''
CLQ + 5% CaSO₄ . 2	8'50''	45'10''
CLQ + 5% CaSO₄ - 3	10'15''	43'00''
Média 5%	10'06''	42'46''

The bottom of the page features a series of overlapping, semi-transparent geometric shapes in shades of orange and beige, creating a modern, abstract design.

6 *DISCUSSÃO*

6 - DISCUSSÃO

6.1 DA METODOLOGIA

6.1.1 Da Implantação Subcutânea

Estudos experimentais de materiais, em animais de laboratório, são realizados procurando-se obter resultados aplicáveis em condições clínicas com humanos. O rato de laboratório, *Rattus norvegicus*, é um dos animais experimentais mais utilizados, já que serve como modelo para simulação de doenças humanas, possibilitando desta forma o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos. O rato possui um metabolismo acelerado, permitindo assim, a obtenção de resultados num menor período de tempo comparados com outros animais como concluiu **RODRIGUES SOSA**¹²⁸ em 2003.

A reprodução do rato em laboratório é controlada e permite a eliminação de fatores individuais como deficiência imune, ou estarem afetados por alguma doença, além da facilidade na obtenção do número das amostras necessárias.

Segundo **HEDRICH**⁶¹, o rato é o animal que melhor representa o modelo de funcionamento dos mamíferos. Ele pode ser utilizado para a análise de grande número de importantes especialidades biomédicas tais como as doenças cardiovasculares, desordens metabólicas, neurológicas, estudos neurocomportamentais, transplante de órgãos, doenças auto-imunes, suscetibilidade ao câncer e doenças renais. O contraste do tamanho do rato em relação a outros modelos animais faz dele o modelo ideal para seguras experimentações fisiológicas.

A avaliação de comportamento de material (**STANFORD**⁴¹) e testes de medicamento ou terapia efetuados em modelos humanos são restringidos, uma vez que existe ética ao se empregar em humanos uma substância ou material que não se conhece seu efeito exato, seja benéfico ou colateral. Previamente ao emprego em humanos, modelos alternativos são necessários, justificando, assim, o uso de animais como modelos experimentais. A experimentação animal deve ser conduzida apenas após consideração da importância do estudo para a saúde do homem, e posteriormente, se for o caso, emprego em humanos.

Os animais tiveram a mesma origem provenientes do Biotério da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP e foram padronizados quanto a saúde, idade, sexo e peso corporal

O teste de implantação de materiais, em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos, como uma metodologia adequada para avaliar a biocompatibilidade foi eleita e usada por

COSTA³⁰, em 2001, e descreve as seguintes vantagens que este teste oferece: 1) uso de limitada área para a manutenção dos animais; 2) facilidade de limpeza e higienização da área reservada a manutenção dos animais no pós-operatório; 3) metodologia de execução relativamente simples, possibilitando o trabalho em vários animais em curto período de tempo; 4) como esta metodologia não envolve tecido calcificado, não há necessidade de descalcificação dos espécimes, o que acelera o processamento laboratorial; 5) a metodologia oferece a possibilidade de comparar a resposta tecidual num mesmo animal, para diversos materiais experimentais implantados, inclusive os materiais usados como controle; 6) o custo para o desenvolvimento da metodologia de implantação é relativamente baixo.

Outras vantagens da aplicação desse método citadas por **OLSSON; SLIWKIWSKI; LANGELAND**¹¹⁰, em 1981, são: permitir a implantação de materiais recentemente manipulados; utilizar a reação das laterais do tubo como controle, para a avaliação da severidade do trauma cirúrgico e seus efeitos, serem relativamente simples e apropriado para provas rotineiras de materiais endodônticos.

Tubos de polietileno, por serem veículos sólidos, foram utilizados por **MAKKES et al.**⁹³ (1977), e concluíram que sua manipulação e implantação em subcutâneo são fáceis, não apresentam reação ao tecido circunjacente, e por serem quimicamente estáveis e não sofrem influência de medicamentos que possam ser acondicionados em seu interior. **COSTA; BACALHAU; HEBLING**³¹ usou tubos de polietileno em sua metodologia bem como **VALERA et al**^{160,161}, que também utilizaram a metodologia de tubos de polietileno para a comparação de quatro cimentos em subcutâneo de ratos onde mostrou diferentes respostas e permitiu averiguar que o cimento Sealer 26 foi o mais biocompatível nos períodos estudados.

A opção pelo uso de tubos de polietileno foi eleita neste trabalho porque é sólido, meio necessário para colocação do material de maneira restrita; é flexível e pode se ajustar ao corpo do animal, parece ser mais confortável na movimentação do animal, permitiu minimizar o trauma cirúrgico durante a implantação, já que neste estudo foi utilizado o instrumento trocarte para a implantação do tubo através de uma pequena divulsão dos tecidos; também por apresentarem uma resposta similar aos tubos de teflon e a cápsula ao redor do tubo servir como controle negativo como foi previamente salientado por **LANGELAND; OLSSON; PASCON**⁸⁴ em 1981.

A implantação dos tubos de polietileno, contendo cimentos no tecido subcutâneo, foi baseado nas normas da **ADA**⁴ que os indica para avaliação biológica da implantação dos materiais. Este método é comum para a avaliação da biocompatibilidade dos materiais dentários e este teste está indicado para avaliar a toxicidade dos materiais "*in vivo*". A

utilização do implante de pastas ou cimentos em tecido mole necessita de um veículo que permita o controle da sua forma e tamanho como sugeriu **TORNECK**¹⁵⁶.

A inserção de materiais experimentais em tubos é reconhecida como um método eficiente para avaliação da resposta histológica, simulando uma condição clínica, principalmente endodôntica, já que o tubo simularia a porção apical de um amplo canal radicular em contato com o tecido conjuntivo. O tubo funciona como um veículo para o acomodamento das materiais no interior dos tecidos. Segundo a literatura, os implantes dos materiais endodônticos podem ser realizados em alguns tipos de tubos, tais como tubos de polietileno, teflon, silicone e dentina, já que todos são bem tolerados pelo organismo. Os tubos de polietileno na implantação subcutânea foram inicialmente idealizados por **DIXON; RICKERT**³⁷ em 1933 e refinados por **TORNECK**^{156, 157} que observou a produção mínima ou nenhuma reação no tecido conjuntivo subcutâneo, indicando a aceitabilidade do material como teste para avaliação dos materiais endodônticos. Segundo **TORNECK**^{156, 157} e **MAKKES**⁹³, após duas semanas da implantação, os tubos de polietileno induziram a alguns sintomas de inflamação nas regiões dos implantes, e que ela desapareceu após três semanas. Segundo **MAKKES**⁹³ 100 esta inflamação visualizada é originada do trauma do procedimento cirúrgico no momento da implantação do tubo.

NARY FILHO¹⁰⁸ estudou a implantação de materiais por meio de tubos de polietileno e concluiu que a metodologia empregada permitiu análise comparativa dos materiais, podendo ser empregada em estudos de comportamento biológico de materiais. **RAMALHO; SANTANA; RAMALHO**¹²⁴ também concluiu que a técnica de implantação de tubo de polietileno é viável para estudo preliminar de biocompatibilidade de matérias odontológicas.

HOLLAND et al⁶²; **ZANONI et al.**¹⁷⁰; **LANGELAND et al**^{84,85}; **GORDYUSUS; ETIKAN; GOKOZ**⁵⁷, **MOTTA et al.**¹⁰⁴, **KOWALSKI et al**⁸³, **SHAHI**¹³³, utilizaram também os tubos de polietileno. **ECONOMIDES et al.**⁴³; **KOLOKOURIS et al.**⁸²; **OLSSON; SLIWKOWSKI; LANGELAND**¹¹⁰; utilizaram tubos de teflon e **ZMENER; GUGLIELMOTTI; CABRINI**¹⁷³ implantaram tubos de silicone rígidos. **HOLLAND et al**^{63, 65, 68} empregaram tubos de dentina preparados a partir de raízes de dentes humanos. Os autores davam preferência aos tubos de dentina em comparação aos tubos de polietileno e teflon, para poder observar a ação dos materiais nas paredes dentinárias. Os Tubos de polietileno foram por nós escolhidos devido à facilidade e praticidade da sua obtenção e também, pela flexibilidade que apresentam, o qual permite a movimentação dos animais sem produzir irritação da pele do mesmo.

Ao utilizar uma das extremidades dos tubos fechadas **OLSSON; SLIWKOWSKI; LANGELAND**¹¹⁰ perceberam que se perdia área para ser avaliada, e que esta região poderia estar servindo para a avaliação de outro tipo de material. Assim optamos por selar uma das

extremidades com guta-percha como realizou **BORTOLUZZI**¹⁴ em 2005 para empregá-la como controle. **TORNEK**^{156, 157} e **ECONOMIDES et al.**⁴³, recomendaram em seus trabalhos, o fechamento de uma das extremidades do tubo para reduzir a possibilidade de extrusão do material, que é capaz de produzir uma inflamação maior como resposta tecidual. **TORNEK**^{156, 157}, observou que o extravasamento foi maior nos casos onde as extremidades dos tubos estavam abertas.

YALTERIK¹⁶⁸, **GORDYUSUS et al.**⁵⁷ realizaram trabalhos seguindo as normas da FDI, que recomenda a implantação de quatro implantes por animal, servindo o quarto como controle (vazio). Utilizando apenas 3 materiais como **CAMPOS-QUINTANA; LLAMOSAS HERNÁNDEZ; MORALES DE LA LUZ**²⁰, **MORAIS**¹⁰⁰ e **CINTRA**²⁷. Em nosso estudo, realizamos quatro implantes preenchidos com os materiais em teste em lado do tubo, e no outro lado foi preenchido com guta-percha que foi o material controle do estudo.

Um dos problemas deste método é que o material pode sair do tubo alojando-se no tecido adjacente e assim, produzir diferentes graus de resposta inflamatória para um mesmo período experimental, além de impedir, em alguns casos, a utilização desta área. (**OLSSON; SLIWKIWSKI; LANGELAND**¹¹⁰). **ZANONI**¹⁷⁰ salientou que tubos com menores quantidades de espaços vazios, ou seja, melhor adaptação do material no interior do tubo, apresentaram melhor evolução na colagenização do tecido. Um fator que auxilia na contenção do material no interior dos tubos é o seu diâmetro, portanto, quanto menor o diâmetro do tubo menor a chance do material espalhar-se pelo tecido. Contudo, deve-se levar em consideração, que um diâmetro muito pequeno irá proporcionar uma área estreita para a avaliação microscópica. Desta forma, escolhemos um diâmetro interno de 1,5 mm que proporciona segurança na retenção do material e uma adequada área para análise microscópica. O extravasamento também pode ser controlado com o selamento de uma das extremidades como foi realizado neste estudo, como recomendado por **TORNEK**^{156,1578} e utilizado por **ECONOMIDES et al.**⁴³ e **BORTOLUZZI**¹⁴. Isto também poderia ser evitado se os tubos fossem implantados após o tempo de presa dos cimentos (**KOLOKOURIS et al.**^{81,82}, **OLSSON; SLIWKIWSKI; LANGELAND**¹¹⁰, **ORSTAVIK e MJÖR**¹¹⁷, 1988), mas eliminaria a avaliação da alta toxicidade inicial da maioria dos materiais endodônticos antes da presa final (**OLSSON; SLIWKIWSKI; LANGELAND**¹¹⁰), além de não avaliar o seu escoamento. **ORTIZ –OROPEZA**¹¹⁴ encontrou em seu estudo um processo inflamatório maior no período de 15 dias para o Endo-CPM-Sealer, estatisticamente superior aos demais cimentos estudados porém, aos 60 dias, apresentou níveis semelhantes de células inflamatórias. Vale ressaltar que a manipulação deste cimento é mais viscosa já que é indicado para obturação

convencional de canais radiculares o que pode ter acarretado esse nível de inflamação. Em nosso estudo utilizando o CPM cimento indicado para cirurgia parendodôntica, sua consistência de manipulação foi mais firme o que colaborou para que o seu extravasamento, e também dos outros cimentos, ocorresse de maneira suave e em casos isolados, resultando em mínimos níveis de células inflamatórias.

XAVIER et al.¹⁶⁷ estudou às extremidades do tubo de polietileno, preenchidas pelo material experimental, em contato com os tecidos. A que estava na direção de penetração do corpo de prova se justapunha a um tecido pouco traumatizado pelo procedimento da implantação, enquanto a outra estava dirigida para o túnel formado pela passagem da cânula do trocarte. Assim, os fenômenos observados nos tecidos ao redor do material, eram um tanto discrepantes entre as duas extremidades, principalmente em períodos iniciais de avaliação. Portanto, as reações inflamatórias e reparativas eram moderadas, em relação à outra extremidade. Nesta, provavelmente logo após a implantação, o material entrava em contato com o coágulo sanguíneo que preenchia o túnel, e a partir dele ocorriam as referidas reações. Esta diferença perturbou a análise conjunta dos fenômenos observados em cada implante. Porém isto não interferiu de maneira a impossibilitar a descrição e graduação em termos médios. Em nosso estudo o cimentos também ficaram em contato com tecidos menos traumatizados, e a guta-percha, provavelmente em contato com maior quantidade de coágulo sanguíneo, apresentou, mesmo no período de 15 dias, resultados semelhantes aos demais e não aconteceu diferença estatisticamente significativa. Este fato, também não perturbou a análise do trabalho de **BORTOLUZZI**¹⁴ que usou a mesma metodologia, e a guta-percha, mesmo ficando para o lado onde o tecido foi mais traumatizado, apresentou melhor processo de reparo, com discreta inflamação nos períodos observados.

Outro fato discordante dos resultados encontrados por **XAVIER et al.**¹⁶⁷, foi que não ocorreu falha de nivelamento da superfície do material em relação à extremidade do tubo e não provocou a concavidade, preenchida por invaginação tecidual, mencionada em seu trabalho.

A utilização da guta-percha para o grupo controle vem do seu amplo emprego em endodontia, para o tratamento convencional de canais radiculares.

Para a anestesia dos animais foi utilizada a associação do anestésico Ketamina (Dopalen – Angribrans do Brasil Ltda.) com o relaxante muscular e analgésico Cloridrato de Xilazina (Anasedan – Angribrans do Brasil Ltda.), com dosagem determinada pelo peso do animal, resultando num efeito anestésico por um período aproximado de 40 minutos, especificamente em animais de metabolismo intenso como os ratos. O uso da Ketamina, anestésico geral na anestesia de animais de laboratório, faz-se em combinação com o relaxante muscular Xilazina,

sedativo e analgésico, que atua no sistema nervoso central induzindo o relaxamento muscular (**CONSEJO CANADIENSE DE PROTECCIÓN DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN**²⁸).

A implantação do tubo de polietileno no tecido subcutâneo pode ser realizada por meio de um trocarte, como foi sugerido por **BORTOLUZZI**¹⁴, **MORETTON**¹⁰³, **NAGEM FILHO**¹⁰⁶ ou utilizando uma pinça. Neste caso, é necessária a abertura de bolsas no tecido subcutâneo receptor, com ajuda de uma tesoura de ponta romba, processo que produz o descolamento de muito tecido, podendo induzir a movimentação dos tubos e, com isso, uma possível resposta inflamatória, e ainda prejudicar a coleta dos espécimes. Além disso, a apreensão do tubo com a pinça, para colocá-lo nas bolsas confeccionadas, pode provocar a extrusão do material, proporcionando uma resposta tecidual ao extravasamento como foi amplamente comentado por **MORAES**¹⁰¹, estudando a biocompatibilidade dos cimentos Sealer 26 e óxido de zinco e eugenol protegidos ou não por própolis.

Neste trabalho, optou-se pela colocação com o auxílio de um trocarte que, por ser menos traumático, produz uma ferida de menor tamanho, restringindo o deslocamento do tubo e pouco extravasamento concordando com **BORTOLUZZI**¹⁴. A extremidade do tubo que continha o cimento experimental foi colocada voltada para a ponta do trocarte. Assim, o êmbolo do instrumento fez pressão sobre a guta-percha no momento de inserção, e os materiais testados ficaram do lado onde ocorreu menor o trauma cirúrgico, inserido a aproximadamente 18 mm.

O sistema de implantação dos quatro materiais em teste no sistema de rodízio permite um equilíbrio entre regiões, evitando interferência das condições anatômicas, sistêmicas, nutritivas dos animais, nas avaliações comparativas dos cimentos.

Quanto aos períodos experimentais de avaliação, as normas da **ISO**⁷² recomendam um período curto de avaliação (48h) para determinar os efeitos da incisão e do procedimento operatório. Como esse não foi o objetivo deste trabalho, optamos por períodos mais longos. Para avaliar a reação do tecido conjuntivo dos animais em contato com os materiais experimentais e controle, recomendam um período curto de 14 dias e um longo de 84 dias. A **ADA**^{3,4} sugere períodos experimentais que podem variar entre 7-10, 21-35 e 60-80 dias. Observamos que na literatura não existe um consenso entre os autores, quanto aos períodos de avaliação, **TORNECK**^{156, 157} utilizou um período de 60 dias, **HOLLAND et al**^{68, 70} optaram por períodos de 7 e 30 dias e outros empregaram períodos que variavam de 7 a 180 dias (**OLSSON**; **SLIMKOWSKI**; **LANGELAND**¹¹⁰; **ORSTAVIK** e **MJÖR**¹¹³; **FERRAZ et al.**⁴⁷; **ECONOMIDES et al.**⁴³; **KOLOKOURIS et al.**^{81,82}; **ZMENER**; **GLUGLIELMOTTI**; **CASRINI**¹⁷³; **ZMENER**¹⁷²; **MORAES**; **ARAGÃO**; **HECK**¹⁰⁰; **LANGELAND**; **OLSSON**;

PASCON⁸⁴). **COSTA**³⁰ recomendou períodos experimentais de 7, 15, 30 e 60 dias, que foram utilizados por **YALTIRIK et al.**¹⁶⁸ como períodos intermediários de avaliação. Vale a pena ressaltar, a observação feita por **MORETTON et al.**¹⁰³, que um mês de vida para o rato equivale a aproximadamente 30 meses para o humano, portanto, se considerarmos um período de vida de três anos para o rato, comparando com o período de vida do humano equivale a 90 anos.

Baseados no estudo de **MORETTON et al.**¹⁰³ e **BORTOLUZZI**¹⁴ optamos pelos períodos de 15, 30 e 60 dias. Ao final do trabalho, sentimos falta de um período experimental inicial mais curto, de sete dias, assim conseguiríamos comparar com mais detalhes a evolução do quadro reacional frente aos materiais em teste e o processo de reparo. Porém, quando um paciente passa por uma cirurgia parendodôntica se busca a maior longevidade possível do tratamento e períodos longos para os ratos podem representar períodos relativamente longos para humanos que na verdade é o que se busca no tratamento ao longo da preservação.

Após a morte dos animais, coletaram-se os tubos em conjunto com suficiente tecido adjacente e procedeu-se o preparo das amostras para análise microscópica. A remoção do tubo foi realizada após fixação das peças histológicas em formol 10% durante a macroscopia, para depois dar sequência ao processamento histológico, técnica também realizada por **TRINDADE; OLIVEIRA; FIGUEIREDO**¹⁵⁸ e **BORTOLUZZI**¹⁴. Neste caso, para atingir um bom resultado extremo cuidado é fundamental, principalmente na hora da incisão, que deve ser firme e única, evitando o repasse da lâmina. Outro momento importante é o deslocamento do tecido aderido da extremidade do tubo, que deve ser separado com delicadeza para não prejudicar a cápsula e a informações histológicas.

Os cortes semi-seriados utilizados neste estudo foram de 5µm como é recomendado pela **ADA**⁴, os quais foram realizados no sentido longitudinal do tubo, abrangendo as duas extremidades da cápsula num mesmo corte, avaliando-se assim numa mesma lâmina, o lado do cimento experimental e do controle com a guta-percha. Foram obtidas 5 lâminas de cada amostra, e em cada lâmina obtiveram-se quatro cortes. Três desses cortes foram selecionados para a análise, respectivamente da lâmina 1, 3, e 5 com o objetivo de avaliar o comportamento do tecido em 3 níveis de profundidade da cápsula.

6.1.2 DOS MATERIAIS EMPREGADOS

6.1.2.1 Da escolha do CPM

O CPM é um cimento indicado para cirurgias parendodônticas à base de Agregados Trióxidos Minerais, desenvolvido por Gabriel de Castro na Argentina. A escolha deste cimento ocorreu devido à falta de estudos biológicos que respaldem seu uso na clínica odontológica e trazer maiores informações sobre seu comportamento.

VASCONCELOS¹⁶², avaliou algumas propriedades físico-químicas do CPM e de outros cimentos como o ProRoot MTA, MTA –Ângelus e um MTA-experimental. Constatou que a liberação de íons cálcio que foi diminuindo com o passar do tempo e apresentou tempo de presa intermediário em relação aos outros materiais; o menor tempo de presa foi do MTA-Ângelus e quanto à solubilidade, o CPM apresentou valores permitidos pela ADA.

BRAMANTE et al.¹⁸, salientaram que o CPM apresenta excelente adaptação marginal, impede a migração bacteriana e de fluidos tissulares para o interior dos tubos dentinários devido ao tamanho pequeno das partículas do pó e relataram suas aplicações em pulpotomias, proteção pulpar direta, perfurações, reabsorções radiculares, cirurgias parendodônticas e também como tampão apical em dentes com rizogênese incompleta.

Avaliando sua adaptação marginal, **OROSCO¹¹¹** em 2007, constatou que o CPM foi o melhor cimento, em relação à adaptação do tampão apical às paredes dentinárias, comparado a outros cimentos estudados, porém sem significância estatística, sob influência de técnicas diferentes de obturação do canal radicular.

A atividade antimicrobiana de cimentos a base de Agregados Trióxidos Minerais foi estudada por **CANZANI et al²¹** em 2007. Compararam o MTA ProRoot cinza e o CPM em obturações retrógradas em dentes humanos extraídos. Avaliaram a atividade bactericida e inibitória destes cimentos frente a quatro cepas de microorganismos, e cmostrou não haver diferença estatisticamente significativa entre os materiais.

ORTIZ-OROPEZA¹¹⁴ também em 2007 avaliou a resposta, em subcutâneo de ratos, frente à implantação do Endo-CPM-Sealer, uma variação do cimento CPM, porém usado para obturação de canais radiculares e encontrou que o Endo-CPM-Sealer apresentou a maior resposta inflamatória no período de 15 dias em relação aos outros cimentos estudados, mas que no período de 60 dias não houve diferença estatisticamente significativa entre os materiais.

Em nosso estudo, o CPM se comportou como um cimento com baixo poder inflamatório comparado aos demais na área da cápsula, com pequenas diferenças entre os períodos. Quanto à

área da subcápsula, no período de 15 dias, foi o que apresentou os menores índices de células inflamatórias diferindo estatisticamente dos demais cimentos.

6.1.2.2 Da escolha do Clínquer do Cimento Portland

Muitos materiais já foram pesquisados, analisados e indicados para cirurgias parodontodônticas. No início dos anos 90, na Universidade de Loma Linda no estado da Califórnia (Estados Unidos), o Professor Mahmoud Torabinejad desenvolveu o MTA. O primeiro trabalho publicado utilizando o MTA foi realizado por **LEE; MONSEF; TORABINEJAD**⁸⁷, em 1993. Avaliaram a capacidade de selamento desse material, no tratamento de perfurações radiculares, e compararam o resultado com o amálgama e o IRM. O MTA foi o material que apresentou menor infiltração em relação aos outros materiais testados.

Os resultados desse trabalho motivaram novas pesquisas por outras propriedades desse material e assim trabalhos sobre MTA continuaram a surgir. Foram realizados outros estudos avaliando sua biocompatibilidade (**TORABINEJAD**^{149,150,151,152,153}, **HOLLAND**^{64, 68,70}, **MITCHELL; DUNSHA; HOTT**⁹⁸, **MORETTON**¹⁰³, **ECONOMIDES**⁴³, **SHIN**¹³⁴, **BAEK; PLENCK JR; KIM**⁸, **BORTOLUZZI**¹⁴, **CAMILLERI**¹⁹, **DUNSHA; HOLT**⁴², **MORAES**¹⁰¹, **SHAHI**¹³³, **SUMER**¹⁴³, capacidade de selamento e infiltração marginal (**TORABINEJAD**^{147,148}, **FERRIS; BAUNGARTNER**⁴⁹, **GONDIN; KIM; SOUZA-FILHO**⁵⁶), retenção e tempo de presa, propriedades físico-químicas (**GANCEDO-CARAVIA; GARCIA-BARBERO**⁵⁴, **SILVA-HERZOG**¹³⁷, **ZAGATO**¹⁶⁹), capacidade antibacteriana e capacidade antifúngica (**SUBRAMANIAN; AL-HEZAIME et al.**⁴², **MOHAMADI; MODARESI; YAZDIZADEH**⁹⁹), capacidade de regeneração perirradicular, mitogenicidade, produção de citocinas e prostaglandinas e comportamento celular (**REGAN; GUTMAM; WITHERSPOOM**¹²⁵, **ZHU**¹⁷¹, **PERES**¹²⁰, **THONSON**¹⁴⁶, **OVIIR**¹¹⁵, **PRADHAN**¹²³, **CINTRA**²⁷, **CHONG; PITT FORD; HUDSON**²⁶, **MAC FARLAND**⁸⁹, **TAKITA**¹⁴⁴, **TANOMARU FILHO**¹⁴⁵, **HANGLUND**⁶⁰, **KOH**^{79,80}, **MITCHELL**⁹⁸, **MELEGARI; BOTERO; HOLLAND**⁹⁴, **AL-RABEAH; PERINPANAYAGAN; MACFARLAND**⁸⁹, Neurotoxicidade (**ASRARI; LOBNER**⁷), poder de alcalinização do meio (**TORABINEJAD**¹⁴⁸, **DUARTE**⁴⁰), genotoxicidade, capacidade de estimulação celular (**MAC FARLAND**⁸⁹, **ZHU**¹⁷¹, **PERES**¹²⁰, **REZENDE**¹²⁶, **OVIIR**¹¹⁵, a citotoxicidade por **TORABINEJAD**¹⁴⁹, **KETTERING; TORABINEJAD**⁷⁷, **KEISER; JOHSON; TIPTON; WILLESCHAUSEN**¹⁶⁴, **ANTUNES**⁵, **NAKAYAMA**¹⁰⁷ e carcinogênese por **SILVA**¹³⁶. Assim, o MTA começou a ser utilizado para resolução ou facilitação do tratamento de problemas endodônticos com melhores resultados do que os materiais até então existentes; trabalhos vieram sedimentar suas boas

propriedades e suas indicações de uso (**HOLLAND**⁷⁰, **TORABINEJAD**; **CHIVIAN**¹⁵⁴, **CASELLA**; **FERLITO**²²) em perfurações dentais (**HONG**⁷¹, **PITT FORD**¹²¹, **MENEZES**⁹⁷, **CHACKMAKCHI**²⁴, cirurgias parodontológicas (**MAH**⁹², **TANOMARU FILHO**¹⁴⁵, **BERNABÉ**; **HOLLAND**^{10,11}, proteções e capeamento pulpares (**MYERS**¹⁰⁵, **PITT FORD**¹²²; **FÁRACO JR**; **HOLLAND**⁴⁶, **IWAMOTO**⁷⁴), plugs apicais (**BRAMANTE**; **BORTOLUZZI**; **BROON**¹⁷, apiceificação (**SIMON**¹³⁸, **SHABANG**¹³², **PRADHAN**¹²³) pulpotomias, obturação de canais radiculares (**HOLLAND**⁷⁰), reabsorções dentárias e outros.

WUCHERPFENNIG; **GREEN**¹⁶⁶, em 1999, realizaram uma comparação entre o MTA e o cimento Portland, ou seja, o cimento da construção civil, porque não se conhecia ao certo os componentes existentes na fórmula do MTA. Segundo os autores, ambos eram compostos principalmente por cálcio, fosfato e silício. Avaliaram a biocompatibilidade dos cimentos em questão, em culturas de células osteoblásticas (MG-63), onde foi observado que os materiais promoveram, de forma semelhante, a formação de matriz mineralizada no capeamento pulpar em molares de ratos. Mostraram ainda que ambos os materiais possuíam efeito semelhante nas células da polpa e com deposição de dentina reparadora em alguns espécimes. Os autores concluíram que o cimento Portland pode ser um cimento ideal tal como o MTA.

Mudanças feitas pelo fabricante do ProRoot MTA salientaram que o material é constituído de 75% de cimento Portland, assim, **BERNABÉ**; **HOLLAND** e outros autores atentos a esta informação pesquisaram semelhanças entre esses materiais como **DIAMANTI**³⁶, **ESTRELA**⁴⁵, et al.⁴⁸; et al.³⁵; **GUARIENTI**; **OSINAGA**; **FIGUEIREDO**⁵⁹; **FUNTEAS**; **WALLACE**; **FOCHTMAN**⁵³; **CAMILLERI** et al.¹⁹; **DAMMASCHKE** et al.³²; **FERREIRA** et al.⁴⁸; **ISLAM**; **CHNG**; **YAP**⁷³; **SONG** et al.¹⁴⁰ **BORTOLUZZI**^{12,13,14}, **MORAES**¹⁰⁰, **SAIDON**¹³⁰, **DUARTE**^{39,41}, **CAMPOS QUINTANA**; **HERNANDEZ**; **PEREIRA**¹¹⁹, **MORALLES**²⁰, **HOLLAND**^{66,67}, **DEAL**³³, **DE DEUS** et al.^{34,35}; **RIBEIRO** et al.¹²⁷; **SAFAVI**; **NICHOLS**¹²⁹; **SAIDON** et al.¹³¹; **SIPERT** et al.¹³⁹; **TANOMARU FILHO** et al.¹⁴⁵; **HOLLAND** et al.⁶⁵; **MORAES** et al.¹⁰⁰; e **TRINDADE**; **OLIVEIRA** e **FIGUEIREDO**¹⁵⁸, **MORAIS**¹⁰², **SILVA**¹³⁵.

O cimento Portland branco é classificado em dois subtipos: cimento estrutural e não estrutural. Neste estudo, foi utilizado o cimento Portland branco não estrutural que apresenta em sua constituição materiais carbonáticos, rochas moídas, carbonato de cálcio, bem como o próprio calcário. Esta composição torna os concretos e argamassas mais trabalháveis, porque as partículas desses materiais moídas têm dimensões pequenas e adequadas para se alojar entre os grãos ou partículas dos demais componentes do cimento, funcionando como um verdadeiro lubrificante. O cimento Portland branco não estrutural é empregado no rejuntamento de azulejos e na fabricação de ladrilhos hidráulicos, ou seja, em aplicações não estruturais. Com o avanço da engenharia, tem-se utilizado o cimento Portland branco estrutural para a confecção de vigas

aparentes e ladrilhos de alta resistência (**TORAYA**¹⁵⁵).

O clínquer do cimento Portland, que se apresenta na forma de pequenas esferas de tamanhos variados, constitui uma etapa da fabricação do cimento, as quais após serem moídas recebem o sulfato de cálcio, dando como resultado final, o cimento Portland que é vendido para fins de construção civil. O sulfato de cálcio é um importante aditivo que entra na composição do cimento Portland para retardar o tempo de presa, ou seja, aumentar o tempo de presa, dando-lhe assim condições de trabalhabilidade. Segundo **CAMILLERI et al**¹⁹ o tempo de presa elevado do MTA é devido à presença do sulfato de cálcio (gesso) na sua composição. O cimento Portland também contém quantidades de sulfato de cálcio (**GOBBO**⁵⁵). A escolha do clínquer do cimento Portland branco puro foi norteadada pelo fato deste não conter na sua composição o sulfato de cálcio, de modo que misturado com água, apresentou tempo de presa mais rápido, o que pode trazer algumas vantagens no tempo de trabalho clínico. A adição de 2 e 5% de sulfato de cálcio ao clínquer o torna um cimento com presa mais lenta como acontece em alguns MTA.

6.1.2.3 Da escolha do Sulfato de Cálcio

Segundo **WIRCHING**¹⁶⁵ o sulfato de cálcio é um mineral que é utilizado para o preenchimento de defeitos ósseos (**DREESMAN**³⁸, **KOFMANN**⁷⁸, **NIELSON**¹⁰⁹, **PELTIER**; **LILLO**¹¹⁸, **LEBOURG**; **BIOU**⁸⁶, **BAHN**⁹, **FRAME**⁵¹, **ELKINS**; **JONES**⁴⁴).

Os autores **PAYNE**¹¹⁶; **PECORA**¹¹⁷ utilizando o Sulfato de Cálcio concluíram que este tem potencial para regeneração tecidual guiada e pode ser usado como barreira para permitir a regeneração óssea. **ORSINI**¹¹², concluiu que o Sulfato de Cálcio mostrou ser um material osteocondutor, reabsorvível, bem tolerado pelo hospedeiro e pode representar uma alternativa razoável no preenchimento de defeitos ósseos.

APAYDIN; **TORABINEJAD**⁶, salientaram que o uso de Sulfato de Cálcio para preenchimento de defeito ósseo remanescente de cirurgia parodontológica em cães, não trouxe nenhum efeito negativo para o reparo e não influenciou significativamente nas propriedades do MTA.

A análise do comportamento tecidual de subcutâneo de ratos frente a esses materiais e do tempo de presa destes produtos, traz importante conhecimento sobre este MTA denominado CPM e o clínquer do cimento Portland branco para posterior pesquisa em humanos e implantação clínica.

6.1.2.4 Da escolha do controle

A **ADA**³ e a **ISO**⁷², recomendam como controle, em estudos de comportamento tecidual

frente a cimentos, o uso da lateral do tubo de polietileno.

Na literatura, diferentes autores indicam como controle, o uso de um tubo vazio (**ECONOMIDES et al.**⁴³; **KOLOKOURIS et al.**^{81,82}). **TORNECK**¹⁵⁶ utilizou tubo vazio no seu estudo e concluiu que houve formação de fibras colágenas, fibroblastos em toda a cápsula que envolveu o tubo sem processo inflamatório. Num outro estudo realizado pelo mesmo autor, ele preencheu tubos de polietileno com debris musculares contaminados e estéreis e percebeu que nos tubos vazios o reparo foi melhor, mesmo em relação a qualquer tubo preenchido. Utilizamos, neste estudo, a guta-percha como controle, que selou uma das extremidades dos tubos. Poderíamos ter utilizado como controle as paredes do tubo, mas optamos pela guta-percha por ser um material utilizado constantemente na endodontia durante a obturação dos canais, a qual é bem tolerada pelos tecidos vivos (**LEONARDO**⁸⁸) e também porque ela funcionou como uma porção apical de uma raiz obturada, representou uma resposta tecidual localizada e não permitiu a invaginação de tecido para o interior do tubo. O tubo vazio funcionaria como controle, mas, isto poderia comprometer a estabilização do material dentro do tubo e promover extravasamento de material no momento da sua implantação. Poderia ocorrer um processo inflamatório decorrente da sua presença física, além de uma possível invaginação de tecido para o interior do tubo, como foi salientada por **TORNECK**¹⁵⁶ o que provavelmente, no momento da remoção do tubo, poderia proporcionar laceração do tecido a ser pesquisado e comprometer os resultados.

Neste estudo, apesar da perda de dois espécimes, foi possível observar que todos os materiais testados, apresentaram um comportamento biológico semelhante, já que segundo a análise descritiva e a avaliação morfométrica, da região capsular e subcapsular, ocorreram pequenas diferenças entre todos os cimentos experimentais principalmente em relação aos períodos estudados. Uma resposta melhor, porém, discreta e sem diferença estatisticamente significativa foi observada no grupo controle. (Tabela I e II e nos gráficos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10).

6.1.3 DO TEMPO DE PRESA

Em relação à determinação do tempo de presa, observou-se que **FIDEL et al.**⁵⁰ utilizaram as normas nº 57 da mesma. **CHNG et al.**²⁵ e **ISLAM; CHNG; YAP**⁷³ empregaram as normas nº 6876 da ISO. O método mais empregado, segundo a literatura, é aquele no qual se obtém o tempo de presa somente com a agulha de Gillmore 113,5 gramas (**FIDEL et al.**⁵⁰, **MCMICHEN**⁹⁰). O presente estudo foi desenvolvido seguindo a recomendação nº 57 da ADA³, realizando-se uma modificação, que foi a inclusão da agulha de Gillmore de 456,5 gramas

(#C266-03 da ASTM) para a obtenção da presa final do cimento, além da de 113,5 gramas baseado em **VASCONCELOS**¹⁶² em 2006 e **ORTIZ – OROPEZA**¹¹⁴ em 2007

A agulha de 113,5 gramas permitiu obter o tempo de presa inicial e a de 453,6 gramas, o tempo de presa final dos cimentos experimentais.

6.2 DOS RESULTADOS

6.2.1 Do comportamento tecidual

Foi possível observar nesse estudo que todos os materiais testados apresentaram um comportamento biológico semelhante, já que, segundo a análise descritiva e a avaliação morfométrica, houve apenas uma diferença significativa para a região da subcápsula, em relação às células inflamatórias entre os materiais; pequenas diferenças em relação aos períodos avaliados do mesmo material são esperadas porque, com o transcorrer do tempo, existe uma maior organização tecidual. (Tabela 1 e 2; gráficos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10).

Como ainda não existem na literatura, trabalhos onde se avalie a biocompatibilidade em animais do CPM e do clínquer do cimento Portland, realizamos as comparações, já que a composição destes dois materiais tem como base na sua composição, o clínquer do cimento Portland. Neste estudo, a referência adotada foi a guta-percha utilizada como controle, a qual no período de 15 dias encontrava-se circunscrita por uma cápsula fibrosa fina com presença de fibroblastos e poucas células inflamatórias crônicas (macrófagos, linfócitos e células gigantes multinucleadas) e estas células inflamatórias foram diminuindo nos períodos de 30 e 60 dias. No período de 15 dias, o clínquer do cimento Portland a 2% foi o que apresentou a menor quantidade de células inflamatórias, inclusive quando comparado ao grupo controle, que foi sutilmente maior. O CPM apresentou a terceira maior reação inflamatória, porém não apresentou diferença estatisticamente significativa com todos os demais materiais para a região da cápsula.

Poucos espécimes mostraram cimento extravasado que foi contado como outras estruturas e histologicamente conseguiu-se observar fragmentos de material de coloração rosa escuro. Segundo **OLSSON; SLIWKOWSKI; LANGELAND**¹¹⁰, o extravasamento do material pode ser devido à movimentação dos animais, e como consequência, a movimentação dos tubos implantados. Segundo **MORAES**¹⁰⁰, quando ocorre extravasamento de cimento, a área de contato do material com o tecido conjuntivo aumenta, assim há uma resposta inflamatória maior, tanto devido à ação irritante do material, como também, devido à própria irritação pela presença física.

ORTIZ-OROPEZA¹¹⁴ encontrou cimento extravasado, principalmente em relação ao

Endo-CPM-Sealer, entretanto como este material é utilizado para a obturação convencional de canais radiculares, a sua manipulação se faz de modo mais viscoso, levando possivelmente a maior extravasamento. O extravasamento encontrado em nosso estudo foi pequeno e em alguns espécimes aleatórios.

FRANCO⁵² apud **BERNABÉ e HOLLAND**¹¹ obteve uma resposta tecidual diferente do que foi encontrado por **BORTOLUZZI**¹⁴, **ORTIZ-OROPEZA**¹¹⁴ e em nosso estudo no período inicial. O autor estudou a reação do tecido de dez ratos ao implante de tubos de polietileno preenchidos com MTA (ProRoot MTA) e cimento Portland. Os resultados mostraram que a resposta tecidual em duas semanas foi similar para ambos os materiais, sendo caracterizada por reação inflamatória aguda, sensivelmente mais branda para o ProRoot MTA, com predominância de tecido fibroso, fibrina e vasos congestos, presença de fibroblastos e macrófagos, além da presença de neutrófilos para o cimento Portland.

Os resultados do nosso estudo, mostram que a densidade de fibras aumentou com o tempo, tornando a cápsula fibrosa mais organizada, mais espessa e com menor número de fibroblastos entre as fibras, confirmado por outros trabalhos descritos na literatura.

Dentre a pequena quantidade de células inflamatórias os macrófagos foram as células predominantes em todos os grupo e também a presença discreta, mas constante de células gigantes multinucleadas tipo corpo estranho, além de alguns linfócitos e raros neutrófilos.

BORTOLUZZI¹⁴, relatou que a resposta do tecido conjuntivo mostra variação para um mesmo material de um implante para o outro, assim como do local de um implante para outro, no mesmo animal. Portanto, este método pode não discernir bem pequenas diferenças de toxicidade entre os materiais.

Em relação à pesquisa utilizando a região subjacente ao cimento, ou seja, a subcápsula não encontramos nenhum estudo que tivesse realizado esta avaliação. Nossa pesquisa surgiu primeiramente para avaliar o comportamento tecidual da cápsula e se essa manifestasse alguma alteração no tecido, o estudo da subcápsula possibilitaria perceber qual a influência desta alteração em regiões próximas e subentender qual seria o comportamento deste material no processo de reparo. Contudo, como foi visualizada diferença estatística apenas para o CPM no período inicial, com menor quantidade de células inflamatórias, não se pode julgar como totalmente efetivo este estudo porque, apesar da diferença existir significativamente, na região estudada se encontrava pouquíssimas células inflamatórias para todos os materiais.

6.2.2 Do tempo de presa

Em relação ao tempo de presa dos materiais, foram encontrados trabalhos que mostraram tempo de presa inicial de 70 minutos para o MTA (**CHNG et al.²⁵**; **ISLAM et al.⁷³**); 15 minutos para o ProRoot, oito minutos para o MTA-Ângelus e 22 minutos para o CPM (**VASCONCELOS¹⁶²**). **ORTIZ-OROPEZA¹¹⁴** obteve em seu estudo tempo de presa inicial de 6 minutos para Endo-CPM-Sealer, 5 minutos para clínquer do cimento Portland puro cinza, 8 minutos para clínquer do cimento Portland cinza acrescido de 2% de sulfato de cálcio e de 10 minutos para o clínquer do cimento Portland cinza com 5% de sulfato de cálcio.

Os tempos de presa final para o MTA, apresentam-se de 165 minutos (**TORABINEJAD et al.¹⁶¹**); 156 minutos (**DEAL et al.³³**); 175 minutos (**CHNG et al.²⁵**; **ISLAM et al.⁷³**). Para o cimento Portland encontram-se tempos de presa inicial com 70 minutos (**ISLAM et al.²⁵**) e o tempo de presa final com 159 minutos (**DEAL et al.³³**); 170 minutos (**ISLAM et al.²⁵**); 130 minutos para o ProRoot, 32 minutos para o MTA-Ângelus e 61 para o CPM (**VASCONCELOS¹⁶²**). **ORTIZ-OROPEZA¹¹⁴** encontrou tempo de presa final de 22 minutos para Endo-CPM-Sealer, 55 minutos para o clínquer puro, 95 minutos para clínquer 2%, e 110 minutos para o clínquer 5% de sulfato de cálcio.

Neste estudo, observamos que o clínquer do cimento Portland puro, apresentou o menor tempo de presa inicial, situação também encontrada por **ORTIZ-OROPEZA¹¹⁴** com 6 minutos, seguido pelo clínquer do cimento Portland acrescido de 2% de sulfato de cálcio com 9 minutos e o clínquer acrescido de 5% de sulfato de cálcio 10 minutos, fato este que demonstra o efeito retardador de presa do sulfato de cálcio. O CPM apresentou 15 minutos para a presa inicial diferindo do estudo apresentado por **VASCONCELOS¹⁶²** que apresentou tempo maior de 22 minutos. Os tempos de presa finais foram de 21 minutos para o clínquer puro, 25 minutos para clínquer a 2%, 27 minutos para o CPM e 42 minutos para o clínquer a 5%. O maior tempo final esteve representado pelo cimento acrescido com 5% de sulfato de cálcio.

Comparando nossos dados com **ORTÍZ-OROPEZA¹¹⁴**, o qual utilizou a mesma metodologia para a análise do tempo de presa, é possível observar que não houve diferença entre os tempos de presa iniciais para o clínquer cinza e branco puro ou acrescido de 2 e 5% de Sulfato de Cálcio. Para o tempo de presa final o clínquer branco mostrou um tempo de presa final menor que o cinza quer ele seja puro ou acrescido de Sulfato de Cálcio.

Segundo a bula do CPM, o tempo de trabalho é de 5 minutos, e que seu comportamento físico-químico forma um gel coloidal que solidifica formando uma estrutura rígida em 15 minutos. O tempo de presa inicial é de 10 minutos e o final é de 30 minutos aproximadamente. Valores estes confirmados por esse estudo.

GROSSMAN⁵⁸ acredita que o tempo ideal de presa deve começar aos 15 minutos, para dar ao operador um tempo adequado de trabalho, já que é fundamental realizar controle radiográfico para a comprovação do tratamento realizado. Com um tempo de presa muito rápido, se for necessário efetuar algum ajuste no material, talvez não se consiga um bom resultado porque ele já não aceita manipulação. Por outro lado, um cimento não deve demorar para tomar a presa final porque existe maior possibilidade de infiltração e prejuízos ao tratamento.

A series of overlapping, semi-transparent geometric shapes in shades of orange and beige, creating a layered, abstract effect at the bottom of the page.

7 CONCLUSÕES

7 - CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, e respeitando-se as limitações da metodologia empregada, é possível concluir que:

- 1 - Os cimentos CPM, Clínquer do cimento Portland branco puro, clínquer do cimento Portland branco acrescido de 2% de Sulfato de Cálcio e o clínquer do cimento Portland branco acrescido de 5 % de sulfato de cálcio não apresentaram diferença estatisticamente significativa, na região da cápsula, nos períodos avaliados.
- 2 - O CPM foi o material que apresentou menor quantidade de células inflamatórias no período de 15 dias com diferença estatisticamente significativa em relação aos demais materiais avaliados na região da subcápsula.
- 3 - O clínquer puro apresentou o menor tempo de presa inicial. Tempos intermediários foram encontrados no clínquer a 2% e 5%, enquanto o maior tempo de presa inicial foi encontrado no CPM.
- 4 - Quanto ao tempo de presa final o clínquer puro também apresentou o menor tempo de presa, seguido pelo clínquer a 2% , CPM e o tempo mais longo ocorreu no clínquer a 5%.
- 5- O sulfato de cálcio atuou retardando a presa do clínquer do cimento Portland branco.

The bottom of the page features a series of overlapping, semi-transparent geometric shapes in shades of orange and light green, creating a modern, abstract design.

8 REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

Errata: inserir

- PELTIER, LF. The use of plaster of paris to fill defects in bone. **Clin Orthop**. v.21, p.1-31, 1961.
- 1. AL-HEZAIMI, K. et al. Comparison of antifungal activity of white-colored and gray-colored mineral trioxide aggregate (MTA) at similar concentrations against *candida albicans*. **J Endod**, v.32, n.4, p.365-7, Apr. 2006.
- 2. AL-RABEAH, E.; PERINPANAYAGAM, H.; MACFARLAND, D. Human alveolar bone cells interact with ProRoot and tooth-colored MTA. **J Endod**, v.32, n.9, p.872-5, Sep. 2006.
- 3. AMERICAN DENTAL ASSOCIATION - Council on Dental Materials and Devices of the American Dental Association. **J Amer Dent Assoc**, v.84, p.375-95, Feb. 1972.
- 4. AMERICAN NATIONAL STANDARDS / AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. **Document n°41 for recommended standard practices for biological evaluation of dental materials**. New York, ANSI/ADA, 1982.
- 5. ANTUNES, F. P. G. C. et al. Avaliação *in vitro* da citotoxicidade do MTA e Super EBA em cultura de fibroblastos embrionários. **Braz Oral Res**, v.16, p.99, 2002. Supplement. /Abstract n. Ic078/.
- 6. APAYDIN, E. S.; TORABINEJAD, M. The effect of calcium sulfate on hard tissue healing following periradicular surgery. **J endod**, v.28, n.3, p.242, March. 2002.
- 7. ASRARI, M.; LOBNER, D. Mechanism of in vitro neurotoxicity of root-end filling materials. **J Endod**, v.29, n.11, p.743-6, Nov. 2003.
- 8. BAEK, S. H.; PLENK, H.; KIM, S. Periapical tissue responses and cementum regeneration with amalgam, SuperEBA, and MTA as root-end filling materials. **J Endod**, v.31, n.6, p.444-9. June. 2005.
- 9. BAHN S. L. Plaster : a bone substitute. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.21, n.5, p.672-8, May. 1966.
- 10. BERNABÉ, P. F. E.; HOLLAND, R. Cirurgia paraendodôntica: quando indicar e como realizá-la. In: GONÇALVES, E.A; FELLER, C. Atualização na clínica odontológica: a prática da clínica geral. São Paulo: Artes Médicas; 1998. p.217-54.
- 11. BERNABÉ, P. F. E.; HOLLAND, R. Cirurgia paraendodôntica: como praticá-la com embasamento científico. In: ESTRELA, C. Ciência endodôntica. São Paulo, Artes médicas, 2004. Cap.16, p.657-797.

12. BORTOLUZZI, E. A.; BROON, N. J.; BRAMANTE, C. M. Avaliação da capacidade seladora do MTA e cimento portland com ou sem cloreto de cálcio em obturações retrógradas. **Braz Oral Res**, v.18, p.213, Sept. 2004. Supplement. /Abstract n. Pc082/
13. BORTOLUZZI, E. A. et al. The use of a setting accelerator and its effect on pH and calcium ion release of mineral trioxide aggregate and white Portland cement **J Endod**, v.32,n.12,p.1194-7, Dec.2006.
14. BORTOLUZZI, E. A. **Avaliação da reação do tecido subcutâneo de ratos à implantação dos cimentos MTA e Portland brancos acrescidos de radiopacificadores**. Bauru, 2005. 175p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
15. BRAMANTE, C. M.; BERBERT, A. Cirurgia parendodôntica. São Paulo, Ed. Santos, 2000.
16. BRAMANTE, C. M.; BERBERT, A.; BERNARDINELI, N. Retroinstrumentação e retroobturação. **RGO**. v.40, n.1, p.38-40, jan./fev. 1992.
17. BRAMANTE, C. M.; BORTOLUZZI, E. A. BROON, N. J. Agregado Trióxido Mineral (MTA) como plug para la obturación de conductos radiculares: descripción de la técnica y caso clínico. **Endodoncia**, v.22, n.3, p.155-61, jul./set. 2004.
18. BRAMANTE, C. M.et al. CPM es MTA: nuevos materiales de uso em endodoncia-experiencias clinicas em el manejo de los materiales. **Rev Facul Odontol**, v.17,p.7-10 2006.
19. CAMILLERI, J. et al. The chemical constitution and biocompatibility of accelerated Portland cement for endodontic use. **Int Endod J**, v.38, n.11, p.834-42, Nov. 2005.
20. CAMPOS-QUINTANA, I.; LLAMOSAS HERNÁNDEZ, E.; MORALES DE LA LUZ, R. Evaluación de la biocompatibilidad del cemento Portland implantado en tejido conectivo subepitelial de ratas. **Rev Assoc Dent Mex**, v.40, n.2, p.45-51, mar./abr. 2003.
21. CANZANI, J. H. et al. Actividade antimicrobiana de cimentos a base de trióxidos minerais agregados. **Rev Assoc. Odontol Argent**, v.95, n. 2, p.139-42. abril/mayo.2007.
22. CASELLA, G.; FERLITO, S. The use of mineral trioxide aggregate in endodontics. **Minerva Stomatol**, v.55, n.3, p. 123-43, Mar. 2006.

23. CASTRO, G. Trióxidos Minerales Agregados - CPM Y EndoCPMSealer. Buenos Aires, 2003. (Monografia) - Centro de Investigaciones Odontológicas.
24. CHAKMAKCHI, M. et al. Sealing effectiveness of white ProRoot MTA in furcation perforations. **Int Endod J**, v.36, n.12, p.945, Dec. 2003. /Abstract n. R75/.
25. CHNG, H. K. et al. Properties of a new root-end filling materials. **J Endod**, v.31, n.9, p.665-8, Sep. 2005.
26. CHONG, B. S.; PITT FORD, T. R.; HUDSON, M. B. A prospective clinical study of mineral trioxide aggregate and IRM when used as root-end filling materials in endodontic surgery. **Int Endod J**, v.36, n.29, p.520-5, 2003.
27. CINTRA, L. T. et al. Evaluation of the tissue response to MTA and MBPC: Microscopic analysis of implants in alveolar bone of rats. **J Endod**, v.32, n.6, p. 556-9, June. 2006.
28. CONSEJO CANADIENSE DE PROTECCIÓN DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN. La anestesia. In: _____. Manual sobre el cuidado y uso de los animales de experimentación. 2.ed. Canadá, 1998. v.1, cap.11, p.1-20.
29. COOMARASWAMY, K. S.; LUMLEY, P. J; HOFMANN, M. P. Effect of bismuth oxide radioopacifier content on the material properties of an endodontic Portland cement-based (MTA-like) system. **J Endod**, v.33, n.3,p.295-8, Mar.2007.
30. COSTA, C. A. S. Testes de biocompatibilidade dos materiais odontológicos. In: ESTRELA, C. **Metodologia científica: ensino e pesquisa em odontologia**. São Paulo, Artes Médicas, 2001. Cap. 10, p.163-94.
31. COSTA, C. A. S.; BACALHAU, J. T.; HEBLING, J. Estudo preliminar da biocompatibilidade de diferentes cimentos usados na terapia pulpar. **Rev pós-grad**, v.10, n. 1, p.25-36, jan-mar, 2003.
32. DAMMASCHKE, T. et al. Chemical and physical surface and bulk material characterization of white ProRoot MT A and two Portland cements. **Dent Mater**, v.21, n.8, p.731-8, Aug. 2005.
33. DEAL, B. F. et al. Chemical and physical properties of MTA, Portland cement, and a new experimental material, Fast-Set MTA. **J Endod**, v.28, n.3, p.252, Mar. 2002. /Abstract n. 70/
34. DE DEUS, G. et al. Cytotoxicity of MT A and Portland cement on human ECV 304 endothelial cells. **Int Endod J**, v.38, n.9, p.604-9. Sep. 2005.

35. DE DEUS, G. et al. MTA versus Portland cement as repair material for furcal perforations: a laboratory study using a polymicrobial leakage model. **Int Endod J**, v.39, n.4, p.293-8, Apr. 2006.
36. DIAMANTI, E. et al. Chemical composition and surface characteristics of grey and new white ProRoot MTA. **Int Endod J**, v.36, n.12, p. 946-7, Dec. 2003. /Abstract n. R81/
37. DIXON, C. M.; RICKERT, U. G. Tissue tolerance to foreign materials. **Arch Oral Biol**, v.20, n.8, p.1458-72, Aug. 1933.
38. DREESMAN, H. Ueber Knochenplombierung. Beitr. **Clin Chir**, v.9, p.804-10.1892. Apud. Peltier, LF. The use of plaster of paris to fill defects in bone. **Clin Orthop** v.21, p.1-31, 1961.
39. DUARTE, M. A. H. et al. Avaliação da contaminação do MTA Ângelus e do cimento de Portland. **J Bras Clin Odontol Int**, v.6, n.32, p.155-7, mar./abr. 2002.
40. DUARTE, M. A. H. et al. pH and calcium ion release of 2 root-end filling materials. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.95, n.3, p.345-7, Mar. 2003.
41. DUARTE, M. A. H. et al. Arsenic release provided by MTA and Portland cement. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.99, n.5, p.648-50, May.2005.
42. DUMSHA, T. C.; HOLT, G. M. Biocompatibility of bone cement, ProRoot, and Super-EBA in ferret canines. **J Endod**, v.26, n.9, p.554, Sept. 2000. /Abstract n. 8/
43. ECONOMIDES, N. et al. Short-term periradicular tissue response to mineral trioxide aggregate (MTA) as root-end filling material. **Int Endod J**, v.36, n.1, p.44-8, Jan. 2003.
44. ELKINS, A. D; JONES, L. P. The effects of plaster of paris and autogenous cancellous bone on the healing of cortical defects in the femurs of dogs. **Vet surg**. v.17, n.2, p.71-8, 1988. Apud MAEDA, S.T. **Implante de sulfato de cálcio em cavidades em fêmures de coelhos: análise microscópica**. 2005, 97 p. Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2005.
45. ESTRELA, C. et al. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. **Braz Dent J**, v.11, n.1, p.3-9, 2000.

46. FARACO JÚNIOR, I. M.; HOLLAND, R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. **Dent Traumatol**, v.17, n.4, p.163-6, 2001.
47. FERRAZ, S. L. et al. Estudo da histocompatibilidade de cimento endodôntico no tecido conjuntivo subcutâneo utilizando três metodologias. **Rev Odontol USP**, v.4, n.3, p.241-6, jul./set. 1990.
48. FERREIRA, M. B. et al. Análise de espectrometria de fluorescência de Raios-X e Difractometria de Raios-X dos cimentos MTA, CPM e CPM Sealer. **Braz Oral Res**, v.19, p.165, 2005. Supplement. /Abstract n. Pb065/
49. FERRIS, D. M.; BAUMGARTNER, J. C. Perforation repair comparing two types of mineral trioxide aggregate. **J Endod**, v.30, n.6, p.422-4, June. 2004.
50. FIDEL, R. A. S. et al. Tempo de endurecimento de alguns cimentos endodônticos que contém hidróxido de cálcio. **ROBRAC**, v.5, n.16, p.15-7, Dez. 1995.
51. FRAME, J. W. A composite of porous calcium sulphate dehydrate and cyanocrylate as a substitute for autogenous bone. **J Oral Surg**, v.38, p.251-6, april. 1980.
52. FRANCO, K. P. B. **Estudo histológico comparativo entre o MTA e o cimento Portland**. Feira de Santana, 2001. 57p. Monografia (Especialização) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual de Feira de Santana apud BERNABE, P.F.E.; HOLLAND, R. Cirurgia parendodôntica: como praticá-la com embasamento científico. In: ESTRELA, C. **Ciência endodôntica**. São Paulo, Artes médicas, 2004. Cap.16, p.657-797.
53. FUNTEAS, U. R.; WALLACE, J. A.; FOCHTMAN, F. W. A comparative analysis of mineral trioxide aggregate and Portland cement. **J Endod**, v.28, n.3, p.259, Mar. 2002. /Abstract n. 21/
54. GANCEDO-CARAVIA, L.; GARCIA-BARBERO, E. Influence of humidity and setting time on the push-out strength of mineral trioxide aggregate obturations. **J Endod**, v. 32, n.9, p.894-6, Sep. 2006.
55. GOBBO L. A. **Os compostos do clínquer Portland: sua caracterização por difração de raios-X e sua quantificação por refinamento de Rietveld**. 2003. 155p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.
56. GONDIM, E.; KIM, S., SOUZA-FILHO, F. J. de. An investigation of microleakage from root-end fillings in ultrasonic retrograde cavities with or without finishing: a

- quantitative analyses. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.99, p.755-60, June. 2005.
57. GORDUYSUS, M. O.; ETIKAN, I.; GOKOZ, A. Histopathological evaluation of the tissue reactions to Endo-Fill canal sealant and filling materials material in rats. **J Endod**, v.24, n.3, p.194-6, Mar. 1998.
58. GROSSMAN, L. I. Physical properties of root canal cements. **J Endod**, v.2, n.6, p.166-75, June.1976.
59. GUARIENTI, D.; OSINAGA, P. W. R.; FIGUEIREDO, J. A. P. Avaliação química e estrutural comparativa entre o cimento Portland e o MTA. **Braz Oral Res**, v.16, p.190, 2002. Supplement. /Abstract n. Pb167/
60. HAGLUND, R. et al. Effects of root-end filling materials on fibroblasts and macrophages in vitro. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.95, n.6, p.739-45, June. 2003.
61. HEDRICH, H .J. History, strains and models. In: KRINKE, G.L. **The Laboratory rat**, London, Academic Press, Cap. 1, p.3-16. 2000.
62. HOLLAND, R. et al. Resposta do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante de alguns materiais obturadores de canal. **Rev Fac Odontol Araçatuba**, v. 2, n. 2, p.217-25, 1973.
63. HOLLAND, R. et al. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. **J Endod**, v.25, n.3, Mar. 1999.
64. HOLLAND, R. et al. Reaction of dog's teeth to root canal filling with mineral trioxide aggregate or a glass ionomer sealer. **J Endod**, v.25, n.11, p.728-30, Nov. 1999.
65. HOLLAND, R. et al. Reaction of rat tissue to implanted dentin tube filled with mineral trioxide aggregate, Portland cement or calcium hydroxide. **Braz Dent J**, v.12, n.1, p.3-8, 2001.
66. HOLLAND, R. et al. Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and pulp covering with mineral trioxide aggregate or Portland cement. **Braz Dent J**, v. 12, n.2, p.109-13, 2001.
67. HOLLAND, R. et al. Agregado de trióxido mineral y cemento Portland en la obturación de conductos radiculares de perro. **Endodoncia**, v.19, n.4, p.275-80, oct./dic. 2001.

68. HOLLAND, R. et al. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with a white mineral trioxide aggregate. **Braz Dent J**, v.13, n.1, p.23-6, 2002.
69. HOLLAND, R. et al. Calcium salts deposition in rat connective tissue after the implantation of calcium hydroxide – containing sealers. **J Endod**, v.28, n.3, p.173-6, Mar. 2002.
70. HOLLAND, R. et al. Agregado de trióxido mineral (MTA): Composição, mecanismo de ação, comportamento biológico e emprego clínico. **Rev Ciênc Odontol**, v.5, n.5, p.7-21, 2002.
71. HONG, C.U. et al. Healing of furcal lesions repaired by amalgam or mineral trioxide aggregate. **J Endod**, v.20, n.4, p.197, Apr. 1994. /Abstract n. 37/
72. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO**: dentistry – preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry – test methods for dental materials. Genève, ISO, 1997.
73. ISLAM, I.; CHNG, H. K.; YAP, A. U. X-ray diffraction analysis of mineral trioxide aggregate and Portland cement. **Int Endod J**, v.39, n.3, p. 220-5, Mar. 2006.
74. IWAMOTO, C. E. et al. Clinical and histological evaluation of white ProRoot MTA in direct pulp capping. **Am J Dent**, v.19, n.2, p.85-90, Apr. 2006.
75. JUÁREZ BROON, N. **Tratamento de perfurações radiculares em dentes de cães com agregado trióxido mineral (MTA) e cimento Portland com e sem cloreto de cálcio**. Bauru. 200 p. Dissertação (Mestrado)-Faculdade Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo. Bauru. 2004.
76. KEISER, K.; JOHNSON, C. C.; TIPTON, D. A. Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. **J Endod**, v.26, n.5, p.288-91, May. 2000.
77. KETTERING, J. D.; TORABINEJAD, M. Investigation of mutagenicity of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. **J Endod**, v.21, n.11, p.537-9, Nov. 1995.
78. KOFMANN, S. Gips als Plombenmaterial. *Zentralbl. Chir* v.52 p.1817-8, 1925 apud Peltier, LF. The use of plaster of paris to fill defects in bone. **Clin Orthop**, v.21, p.1-31, 1961.
79. KOH, E. T. et al. Mineral trioxide aggregate stimulates a biological response in human osteoblasts. **J Biomed Mat Res**. v.37, n.3, p.432-9, Dec. 1997.

80. KOH, E. T. et al. Cellular response to mineral trioxide aggregate. **J Endod**, v.24, n.8, p.543-7, Aug. 1998.
81. KOLOKOURIS, I. et al. Experimental study of the biocompatibility of a new glass-ionomer root canal sealer (Ketac-Endo). **J Endod**, v.22, n.8, p.395-8, Aug. 1996.
82. KOLOKOURIS, I. et al. In vivo comparison of the biocompatibility of two root canal sealers implanted into the subcutaneous connective tissue of rats. **J Endod**, v.24, n.2, p.82-5, Feb. 1998.
83. KOWALSKI, R. et al. Estudo comparativo da resposta histológica ao implante submucoso em ratos de cimento agregado trióxido mineral (MTA) de duas marcas comerciais. **Odontol Clin Cient**, v. 3, n.1, p.17-24, jan- abril. 2004.
84. LANGEAD, K.; OLSSON, B.; PASCON, E. A. Biological evaluation of Hydron. **J Endod**. v.7, n.5, p.196-204, 1981.
85. LANGEAD, K. et al. Methods in the study of biologic responses to endodontic materials. **Oral Surg**, v.27, n.4, p.522-42, Apr. 1969.
86. LEBOURG, L.; BIOU, C. The imbedding of plaster of paris in surgical cavities of the jaws. **Sem Hosp paris**, n. 37, p.1195-7, 1961.
87. LEE, S. J.; MONSEF, M.; TORABINEJAD, M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. **J Endod**, v.19, n.11, p.541-4, Nov. 1993.
88. LEONARDO, M. R. et al. A comparison of subcutaneous connective tissue responses among three different formulation of gutta-percha used in thermatic techniques. **Int Endod J**, v.23, n.4, p.211-7, 1990.
89. MAC FARLAND, D. et al. Human alveolar bone cells interact with Proroot and tooth colored MTA. **J Endod**, v.32, n.9, p.872-5. sep 2006
90. MCMICHEN, F .R. S. et al. A comparative study of selected physical properties of five root-canal sealers. **Int Endod J**, v.36, n.9, p.629-35, Sep. 2003.
91. MAEDA, S. T. **Implante de sulfato de cálcio em cavidades em fêmures de coelhos: análise microscópica**. 2005, 97p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2005.
92. MAH, T. et al. Periapical inflammation affecting coronally-inoculated dog teeth with root fillings augmented by white MTA orifice plugs. **J. Endod**,. v.29, n.7, p.442-6. July. 2003.

93. MAKKES, S. K. et al. Polyethylene tubes as a model for the root canal. **Oral Surg**, v.44, n.2, p.293-300, Aug. 1977.
94. MELEGARI, K. K; BOTERO, T. M; HOLLAND, G. R. Prostaglandin E production and viability of cells cultured in contact with freshly mixed endodontic materials. **Int Endod J**, v. 39, n. 5, p. 357-62, May. 2006.
95. MENEZES, R. S. da. **Avaliação microscópica da resposta do complexo dentino-pulpar de dentes de cães ao agregado de trióxido mineral**. Bauru, 2003. 90p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru. 2003.
96. MENEZES, R. S. et al. Histologic evaluation of pulpotomies in dog using two types of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cement as wound dressings. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.98, n.3, p.376-9, Sept. 2004.
97. MENEZES, R. S. et al. MTA repair of a supracrestal perforation: a case report. **J. Endod**, v.31, n.3, p. 212-4. March. 2005.
98. MITCHELL, P. J. C. et al. Osteoblast biocompatibility of mineral trioxide aggregate. **Biomaterials**, v.20, n.2, p.167-73, Jan. 1999.
99. MOHAMMADI, Z.; MODAREZI, J.; YADISZADEH, M. Evaluation of the antifungal effects of mineral trioxide aggregate materials. **Aust Endod J**, v. 32, n.3, p.120-2, Dec. 2006.
100. MORAES, S. H.; ARAGÃO, E. M. de; HECK, A. R. Reação do tecido conjuntivo subcutâneo de rato ao implante do cimento Portland. **J Bras Endod**, v.2, n.7, p.326-329, out./dez. 2001.
101. MORAES F. G. **Biocompatibilidade do cimento Sealer 26 e óxido de zinco e eugenol protegidos ou não com dois diferentes tipos de própolis**. Análise em tecido subcutâneo de ratos. 2006. 195p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru. 2006.
102. MORAIS, C. A. et al. Evaluation of tissue response to MTA and Portland cement with iodoform. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.102, n.3, p.417-21, Sep. 2006.
103. MORETTON, T. R. et al. Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of mineral trioxide aggregate and ethoxybenzoic acid cement. **J Biom Mat Res**, v.52, n.3, p.528-33, Oct./Dec. 2000.

104. MOTTA, A. G. da et al. Reação do tecido conjuntivo subcutâneo de rato ao MTA e ao hidróxido de cálcio. **Rev Bras Odontol**, v.60, n. 4, jul./ago. 2003.
105. MYERS, K. et al. The effects of mineral trioxide aggregate on the dog pulp. **J Endod**, v.22, n.4, p.198, Apr. 1996. /Abstract n. 39/
106. NAGEM FILHO, H. **Reações histopatológicas do tecido conjuntivo subcutâneo do rato a implantes simples (ouro ou amálgama de prata) ou mistos (ouro e amálgama de prata)**. Bauru, 1972. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
107. NAKAYAMA, A. et al. Behavior of bone marrow osteoblast-like cells on mineral trioxide aggregate: morphology and expression of type I collagen and bone-related protein mRNAs. **Int Endod J**, v. 38, p.203-10, 2005.
108. NARY FILHO, H.; OKAMOTO, T. Avaliação da biocompatibilidade de implantes de HapsetR (hidroxiapatita associada ao sulfato de cálcio) em feridas de extração dental. Estudo histológico em ratos. **Rev Fac Odont Bauru**, v.4, n.112, p. 55-64, Jan.-Jun. 1996.
109. NIELSON, A. filling of sterile and infected bone cavities by means of plaster of paris. *Acta Chir Scandinav*. V.91, p 17-27.1944 apud Peltier LF, The use of plaster of paris to fill defects in bone. **Clin Orthop**, v.21, p1-31, 1961.
110. OLSSON, B.; SLIWKOWSKI, A.; LANGE LAND, K. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. **J Endod**, v.7, n.8, p.355-69, Aug. 1981.
111. OROSCO, F. A. **Análise da capacidade seladora e da adaptação marginal de tampões apicais confeccionados com diferentes materiais, sob influência de três técnicas de obturação**. 2007.152p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru. 2007.
112. ORSINI, G. et al. Bone defect healing with calcium sulfate particles and cement: an experimental study in rabbits. **J Biomed mater Res**, v.15, n.68 p.199-208, Feb.2004.
113. ØRSTAVIK, D.; MJÖR, I. A. Histopathology and X-ray microanalysis of the subcutaneous tissue response to endodontic sealers. **J Endod**, v.14, n.1, p.13-23, Jan. 1988.
114. ORTÍZ-OROPEZA, R. M. **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 de sulfato de cálcio a 2 e 5%**. 2007. 219p.

- Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru. 2007.
- 115.OVIIR, T. et al. Effects of gray and white mineral trioxide aggregate on the proliferation of oral keratinocysts and cementoblasts. **J Endod**, v.32,n.3, p.210-13, March. 2006.
- 116.PAYNE, J. M. Migration of human gingival fibroblasts over guided tissue regeneration barrier materials. **J Periodontol**, v.67, n.3,p.236-44,1996.
- 117.PECORA G. Bone regeneration with a calcium sulfate barrier. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.84, n.4, p.424-9, 1997.
- 118.PELTIER, L. F.; LILLO, R. The substitution of plaster of paris rods for portions of the diaphysis of the radius in dogs. **Surg Forum**, v.6, p. 556-8, 1956.
- 119.PEREIRA, E. M. et al. Capacidade de vedamento de diversos materiais em perfurações radiculares. **Rev Bras Odontol**, v.60, n.5, p.349-52, set./out. 2003.
- 120.PÉRES, A. L. et al. Osteoblasts and MG-63 osteosarcoma cells behave differently when in contact with ProRoot™ MTA and White MTA. **Int Endod J**, v. 36, n.8, p.564-70, Aug. 2003.
- 121.PITT FORD, T. R. et al. Use de mineral trioxide aggregate for repair of furcal perforations. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.79, n.6, p.756-63, June. 1995.
- 122.PITT FORD, T. R. et al. Using Mineral Trioxide Aggregate as a pulp-capping material. **J Am Dent Assoc**, v.127, n.10, p.1491-4, Oct. 1996.
- 123.PRADHAN, D. P. et al. Comparative evaluation of endodontic management of teeth with unformed apices with mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide. **J Dent Child**, v.73, n.2, p.79-85, May-Aug 2006.
- 124.RAMALHO, L. M. P; SANTANA, E. J. B; RAMALHO, M. J. P. Influência da proporção pó/ líquido nas propriedades biológicas de cimento endodôntico a base de óxido de zinco e eugenol. **Rev Odonto Ciênc**, v. 15, n.29, p. 111-23, Jun. 2000.
- 125.REGAN, J. D.; GUTMANN, J. L.; WITHERSPOON, D .E. Comparasion of Diaket and MTA when used as root-end filling materials to support regeneration of the periradicular tissues. **Int Endod J**, v.35, n.10, p.840-7, Oct. 2002.
- 126.REZENDE, T. M. et al. Effect of mineral trioxide aggregate on cytokine production by peritoneal macrophages. **Int Endod J**, v.38, n.12, p.896-903. Dec. 2005.

127. RIBEIRO, D. A. et al. Genotoxicity and cytotoxicity of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements on Chinese hamster ovary (CHO) cells *in vitro*. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.101, n.2, p.258-61, Feb. 2006.
128. RODRIGUEZ SOSA, S. A. **Reação histopatológica do tecido conjuntivo do dorso de ratos irradiado com laser de CO₂ ou de Er:YAG**. Araraquara, 2004. 98p. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista. Araraquara. 2004.
129. SAFAVI, K.; NICHOLS, F. C. Secretion of PGE₂ from monocytes exposed to MTA or Portland cement. **J Endod**, v.26, n.9, p.540, Sept. 2000. /Abstract n. 18/
130. SAIDON, J. et al. Tissue reaction to implanted mineral trioxide aggregate or Portland cement. **J Endod**. v.28, n.3, p.247, Mar. 2002. /Abstract n. 52/
131. SAIDON, J. et al. Cell and tissue reactions to mineral trioxide aggregate and Portland cement. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.95, n.4, p.483-9, Apr. 2003.
132. SHABAHANG, S. et al. A comparative Study of root-end induction using osteogenic protein-1, calcium hydroxide, and mineral trioxide aggregate in dogs. **J Endod**, v.25, n.1, p.1-5, Jan. 1999.
133. SHAHI, S. et al. A comparative study of the biocompatibility of three root end filling materials in rat connective tissue. **J Endod**, v.32, n.8, p.776-80, Aug. 2006.
134. SHIN, S. et al. Biocompatibility and mitogenic effect of several root-end filling materials in osteoblast and odontoblast cultures. **J Endod**, v.29, n.4, p.306, Apr. 2003. /Abstract n. 29/
135. SILVA, R. F. et al. Estudo das propriedades de estabilidade dimensional e solubilidade e desintegração dos cimentos MTA e tipo portland. **Braz Oral Res**, v.16, p.145, 2002. Supplement. /Abstract n. Pa186/
136. SILVA, G. N. et al. Genotoxicity in primary human peripheral lymphocytes after exposure to regular and white mineral trioxide aggregate. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.102, n.5, p.50-4, Nov. 2006.
137. SILVA HERZOG-FLORES, D. et al. Análisis fisicoquímico del mineral trióxido agregado (MTA) por difracción de rayos X calorimetría y microscopia electrónica de barrido. **Rev Assoc Dent Mex**, v.57, n.4, p.125-31, jul./ago. 2000.
138. SIMON, S.; et al. The use of mineral trioxide aggregate in one-visit apexification treatment: a prospective study. **Int Endod J**, v. 40, n.3, p.186-97, Mar. 2007.

139. SIPERT, C. R. et al. In vitro antimicrobial activity of Fill Canal, Sealapex, Mineral Trioxide Aggregate, Portland cement and EndoRez. **Int Endod J**, v.38, n.8, p.539-43, Aug. 2005.
140. SONG, J. S. et al. Chemical analysis of powder and set forms of Portland cement, gray ProRoot MTA, white ProRoot MTA, and gray MTA-Angelus. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.102, n.6, p.809-15, Dec. 2006.
141. STANFORD, J. W. Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. **Int Endod J**, v.30, n.2, p.140-88, June. 1980.
142. SUBRAMANIAN, K. et al. Can ProRoot® become more microbe "unfriendly". **J Endod**, v.29, n.4, p.306, Apr. 2003. /Abstract n. 31/
143. SUMER, M. et al. Reactions of connective tissue to amalgam, intermediate restorative material, mineral trioxide aggregate, and mineral trioxide aggregate mixed with chlorhexidine. **J Endod**, v.32, n.11, p.1094-6, Nov. 2006.
144. TAKITA, T. et al. Effect os mineral trioxide aggregate on proliferation of cultured human dental pulp cells. **Int Endod J**, v.39, p. 415-22, 2006.
145. TANOMARU FILHO, M. et al. Evaluation of periapical repair following retrograde filling with different root-end filling materials in dog teeth with periapical lesions. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 102, n.1, p.127-32, july .2006.
146. THOMSON, T. S. et al. Cementoblasts maintain expression of osteocalcin in the presence of mineral trioxide aggregate. **J Endod**, v.29, n.6, p.407-12, June 2003.
147. TORABINEJAD, M. et al. Dye leakage of four root end filling materials: effects of blood contamination. **J Endod**, v.20, n.4, p.159-63, Apr. 1994.
148. TORABINEJAD, M. et al. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. **J Endod**, v.21, n.7, p.349-53, July.1995.
149. TORABINEJAD, M. et al. Citotoxicity of four root end filling materials. **J Endod**, v.21, n.10, p.489-92, Oct. 1995.
150. TORABINEJAD, M. et al. Tissue reaction to implanted Super-EBA and mineral trioxide aggregate in the mandible of guinea pigs: a preliminary report. **J Endod**, v.21, n.11, p.569-71, Nov. 1995.
151. TORABINEJAD, M. et al. Investigation of mineral trioxide aggregate for root-end filling in dogs. **J Endod**, v.21, n.12, p.603-8, Dec. 1995.

152. TORABINEJAD, M. et al. Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root-end filling in monkeys. **J Endod**, v.23, n.4, p.225-8, Apr. 1997.
153. TORABINEJAD, M. et al. Tissue reaction to implanted root-end filling materials in the tibia and mandible of guinea pigs. **J Endod**, v.24, n.7, p.468-71, July 1998.
154. TORABINEJAD, M.; CHIVIAN, N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. **J Endod**, v.25, n.3, p.197-205, Mar. 1999.
155. TORAYA, J. de las C. Um siglo de cemento en Latino America. **Instituto mexicano de cemento y el concreto**. IMCYC, México. 1999. Disponível em: http://www.vitruvius.com.br/arquitextos/arq028/arq028_01.asp > Acesso em: 16 Ago. 2007.
156. TORNECK, C. D. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. **Oral Surg**, v.21, n.3, p.379-87, Mar. 1966.
157. TORNECK, C. D. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. **Oral Surg**, v.24, n.5, p.674-83, Nov. 1967.
158. TRINDADE, A. C.; OLIVEIRA, E. P. M. de.; FIGUEIREDO, J. A. P. de. Análise comparativa da resposta tecidual ao agregado trióxido mineral (MTA) e ao cimento Portland, isolado e acrescido de substância radiopacizante. **J Bras Endod**, v.4, n.15, p.309-14, out./dez. 2003.
159. TROWBRIDGE, H. O.; EMLING, R. C. Inflammation: a review of the process. 5.ed. Chicago, Quintessence Books, 1997.
160. VALERA, M. C. **Estudo da compatibilidade biológica de alguns cimentos endodônticos à base de hidróxido de cálcio e um cimento de ionômero de vidro. Avaliação do selamento marginal apical e análise morfológica por microscopia de força atômica**, 1995. 332 p. Tese (Doutorado)-Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1995.
161. VALERA, M. C. Biological compatibility of some types of endodontic calcium hydroxide and glass ionomer cements. **J. Appl. Oral Sci**, v.12, n.4, p.294-300, oct.-dec., 2004.
162. VASCONCELOS, B. C. **Avaliação de algumas propriedades físico-químicas de cimentos retro-obturadores a base de agregado trióxido mineral e de um cimento epóxico experimental**. 2006.138p. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Odontologia de Bauru, Bauru, 2006.

163. WEIBEL, E. R. Stereological principles of morphometry in electron microscopic cytology. **Int Rev Cytol**, v. 26, p.235-302, 1969.
164. WILLERSHAUSEN, B. et al. Biocompatibility of orthograde and retrograde root canal filling materials. **J Endod**, v.26, n.9, p.545, Sept. 2000. /Abstract n. 38/
165. WIRSCHING, F. Calcium sulfate. In: Encyclopedia of industrial chemistry. 5 ed. Fritz Ullmann, Deerfield Beach, USA, v.4, p. 551-81, 1993. apud MAEDA, S. T. **Implante de sulfato de cálcio em cavidades em fêmures de coelhos: análise microscópica**. 2005, 97p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 2005.
166. WUCHERPFENNIG, A. L.; GREEN, D. B. Mineral trioxide vs. Portland cement: two biocompatible filling materials. **J Endod**, v.25, n.4, p.308, April 1999. /Abstract n. 40/
167. XAVIER, M. J. et al. Comportamento histopatológico do tecido conjuntivo de *rattus norvegicus* var. *albinus* a implantes dos cimentos para obturação de canais: Rickert, AH-26 e Endométhasone. **Estomate Cultura**, v.8, n.1, p.61-71, jan./jun. 1974.
168. YALTIRIK, M. et al. Reaction of connective tissue to mineral trioxide aggregate and amalgam. **J Endod**, v. 30, n.2, p.95-9, Feb. 2004.
169. ZAGATO, E. F. **Influência do tamanho das partículas nas propriedades físico-químicas do cimento endodôntico CER**. 2006. 50p. Dissertação (Mestrado)- Universidade Paulista, Ilha Solteira. Disponível em: www.biblioteca.unesp.br/bibliotecadigital/document/?down=3161 Acesso em: 4 Fev. 2007.
170. ZANONI, E. M. S. et al. Espaços vazios nas obturações endodônticas. **RGO**, v. 36, n.3, p.232-9, maio/jun. 1988.
171. ZHU, Q. et al. Adhesion of human osteoblasts on root-end filling materials. **J Endod**, v. 26, n. 7, p.404-6, July. 2000.
172. ZMENER, O. Tissue response to a new methacrylate-based root canal sealer: Preliminary observations in the subcutaneous connective tissue of rats. **J. Endod**, v. 30, n. 5, p.348-351, May. 2004.
173. ZMENER, O.; GUGLIELMOTTI, M. S.; CASRINI, R. L. Tissue response to an experimental calcium hydroxide-based endodontic sealer: a quantitative study in subcutaneous connective tissue of the rat. **Endod Dent Traumatol**, v.6, n.2, p.66-72, Apr. 1990.

ANEXOS

ANEXO A

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 - Bauru-8P - CEP 17012-901 - C.P. 73 PABX
(0XX14)3235-8000 - FAX (0XX14)3223-4679

Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

CEEPA-Proc. N° 23.12005

Bauru, 17 de novembro de 2005.

Senhor professor,

Informamos que esta Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais, apreciou o projeto de pesquisa "Avaliação microscópica do implante de Agrega Trióxido Mineral - CPM e o Clínquer Branco" de autoria de Márcia Maria Magro, emitindo parecer favorável "ad referendum" à realização do trabalho tendo em vista não haver infrações éticas.

Sendo o que nos apresenta para o momento, despedimo-nos

Atenciosamente.

Prof. Dr. Merrillia Afonso Rabelo Buzalaf
Presidente da Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

UmO Sr. Prof. Dr. Clovis Monteiro Bramante
DD. Docente do Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários

ANEXO B

TABELA PARA ANESTESIA DE RATO

INTRAMUSCULAR: (Face posterior da coxa , agulha: 13 x 3,8)

MEDICAÇÃO PRÉ-ANESTÉSICA (M.P.A): Quetamina 25 mg/Kg IM .

ANESTESIA: Xilazina 10 mg/kg (IP) associada à
Quetamina 25 mg/kg (IP) na mesma seringa.

Período latência (PL): 2-5 min.

Período hábil (PH): 40 min.

Rato Peso (g)	Relaxante Muscular (M.P.A)	ANESTESIA	
	QUETAMINA	XILAZINA	QUETAMINA
	Francotar, Dopalen, Vetaset ml.	Anasedan, rompun ml.	Francotar, Dopalen, Vetaset ml.
100	.025	.050	.025
110	.027	.055	.027
120	.030	.060	.030
130	.032	.065	.032
140	.035	.070	.035
150	.037	.075	.037
160	.040	.080	.040
170	.042	.085	.042
180	.045	.090	.045
190	.047	.095	.047
200	.050	.100	.050
210	.052	.105	.052
220	.055	.110	.055
230	.057	.115	.057
240	.060	.120	.060
250	.062	.125	.062
260	.065	.130	.065
270	.067	.135	.067
280	.070	.140	.070
290	.072	.145	.072
300	.075	.150	.075
310	.077	.155	.077
320	.080	.160	.080
330	.082	.165	.082
340	.085	.170	.085
350	.087	.175	.087

Fonte: Manual para técnicos em bioterismo
Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA)
BIOTÉRIO - FOB

The bottom of the page features a series of overlapping, semi-transparent geometric shapes in shades of orange and light green, creating a modern, abstract design.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Modelo de ficha de cada animal para a determinação do local de implantação do tubo e seu esquema de identificação

Pesquisa ratos 2 grupo III

Rato 1 - grupo III

Marcação na orelha esquerda quadrante superior direito e marcação na ponta da orelha direita

Características

Data

Peso

Hora

RODÍZIO

APÊNDICE B- Valores individuais (%) obtidos das estruturas avaliadas na região da Cápsula

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cél inflam
Rato 1	15 dias	Clinq 5%	74.95	12.22	7.78	4.89	0.15
Rato 2	15 dias	Clinq 5%	76.89	6.44	11.78	4.44	0.44
Rato 3	15 dias	Clinq 5%	78.00	7.33	11.56	2.22	0.89
Rato 4	15 dias	Clinq 5%	82.22	8.22	5.33	3.56	0.67
Rato 5	15 dias	Clinq 5%	83.11	10.89	3.78	2.00	0.22
Rato 6	15 dias	Clinq 5%	83.56	12.00	2.22	1.78	0.44

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cél inflam
Rato 1	15 dias	Clinq 2%	73.56	12	10.24	4	0.22
Rato 2	15 dias	Clinq 2%	80.89	10.22	6.22	2.44	0.22
Rato 3	15 dias	Clinq 2%	79.33	11.11	6	3.33	0.22
Rato 4	15 dias	Clinq 2%	84.67	10.44	4	0.67	0.22
Rato 5	15 dias	Clinq 2%	81.56	10	5.11	3.11	0.22
Rato 6	15 dias	Clinq 2%	79.11	6.22	13.33	0.67	0.67

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cél inflam
Rato 1	15 dias	Clínquer	73.11	12	11.11	3.33	0.44
Rato 2	15 dias	Clínquer	76	8.44	11.56	3.56	0.44
Rato 3	15 dias	Clínquer	74	13.78	8.89	2.89	0.44
Rato 4	15 dias	Clínquer	83.3	9.33	4.22	2.89	0.22
Rato 5	15 dias	Clínquer	80.44	13.78	3.56	1.33	0.89
Rato 6	15 dias	Clínquer	74.44	11.78	8.67	4	1.11

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cél inflam
Rato 1	15 dias	CPM	80.00	12.00	4.89	2.67	0.44
Rato 2	15 dias	CPM	72.00	11.11	14.00	2.00	0.89
Rato 3	15 dias	CPM	74.36	11.33	10.67	2.75	0.89
Rato 4	15 dias	CPM	79.11	8.22	10.22	2.22	0.22
Rato 5	15 dias	CPM	77.12	8.00	13.11	1.33	0.44
Rato 6	15 dias	CPM	84.22	9.78	4.22	1.56	0.22

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cél inflam
Rato 1	15 dias	Controle	74.5	13	10.33	2	0.2
Rato 2	15 dias	Controle	74.38	11.16	11.72	2.25	0.44
Rato 3	15 dias	Controle	78.1	8.94	7.11	5.61	0.22
Rato 4	15 dias	Controle	84.33	8.7	4.78	1.94	0.22
Rato 5	15 dias	Controle	83.7	8.17	6.56	1.33	0.22
Rato 6	15 dias	Controle	80.44	8.4	7.94	2.83	0.39

	Período	Material	Fib. Colág	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cél inflam
Rato 1	30 dias	Clinq 5%	81.33	7.56	7.78	2.89	0.44
Rato 2	30 dias	Clinq 5%	86.22	7.56	4.67	1.11	0.44
Rato 3	30 dias	Clinq 5%	87.59	8.44	2.67	1.11	0.22
Rato 4	30 dias	Clinq 5%	86.22	6.67	5.78	1.11	0.22
Rato 5	30 dias	Clinq 5%	83.56	7.33	7.56	1.33	0.22
Rato 6	30 dias	Clinq 5%	86.2	6.99	4.68	1.73	0.44

	Período	Material	Fib. Colág	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cél inflam
Rato 1	30 dias	Clinq 2%	83.56	4.44	9.78	1.78	0.44
Rato 2	30 dias	Clinq 2%	85.56	10.67	2.22	1.33	0.22
Rato 3	30 dias	Clinq 2%	84	6.22	8	1.33	0.44
Rato 4	30 dias	Clinq 2%	87.56	8.22	2.44	1.56	0.22
Rato 5	30 dias	Clinq 2%	88.89	7.78	2	1.11	0.22
Rato 6	30 dias	Clinq 2%	87.11	5.56	5.78	1.33	0.22

	Período	Material	Fib. Colág	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cél inflam
Rato 1	30 dias	Clínquer	81.88	9.78	4.99	2.89	0.44
Rato 2	30 dias	Clínquer	90	7.56	1.56	0.67	0.22
Rato 3	30 dias	Clínquer	83.3	6	9.78	0.67	0.22
Rato 4	30 dias	Clínquer	89.78	5.56	3.56	1.11	0
Rato 5	30 dias	Clínquer	85.11	4.89	8.67	1.11	0.22
Rato 6	30 dias	Clínquer	85.56	5.78	8	0.67	0

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cél inflam
Rato 1	30 dias	CPM	83.38	6.44	7.78	2.22	0.22
Rato 2	30 dias	CPM	89.56	5.33	3.56	1.33	0.22
Rato 3	30 dias	CPM	83.56	6.44	8.89	0.89	0.22
Rato 4	30 dias	CPM	82.67	7.78	8.44	0.89	0.22
Rato 5	30 dias	CPM	86.67	8.89	3.78	0.67	0
Rato 6	30 dias	CPM	86.89	4.89	7.11	0.89	0.22

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cél inflam
Rato 1	30 dias	Controle	83.83	9.78	3.78	2.44	0.17
Rato 2	30 dias	Controle	85.83	6.67	4.06	3	0.44
Rato 3	30 dias	Controle	85.94	7.83	5.11	0.83	0.28
Rato 4	30 dias	Controle	89.28	6.61	3.06	0.83	0.22
Rato 5	30 dias	Controle	89.1	7.11	1.67	1.94	0.17
Rato 6	30 dias	Controle	87.83	5.72	5.33	1	0.11

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cél inflam
Rato 1	60 dias	Clínq 5%	93.56	4.67	1.11	0.44	0.22
Rato 2	60 dias	Clínq 5%	92.44	4.89	1.78	0.67	0.22
Rato 3	60 dias	Clínq 5%	92.22	5.56	1.11	0.89	0.22
Rato 4	60 dias	Clínq 5%	90.67	3.11	5.33	0.67	0.22
Rato 5	60 dias	Clínq 5%	93.56	4.67	1.33	0.44	0
Rato 6	60 dias	Clínq 5%	88.22	5.33	5.78	0.44	0.22

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cél inflam
Rato 1	60 dias	Clínq 2%	90.67	2.22	6.22	0.67	0.22
Rato 2	60 dias	Clínq 2%	92.89	2.89	3.33	0.67	0.22
Rato 3	60 dias	Clínq 2%	91.56	2.67	4.89	0.44	0.44
Rato 4	60 dias	Clínq 2%	91.33	3.78	4	0.67	0.22
Rato 5	60 dias	Clínq 2%	92.44	2.67	4	0.89	0
Rato 6	60 dias	Clínq 2%	92.88	2.67	4	0.44	0

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cél inflam
Rato 1	60 dias	Clínquer	89.33	4.44	5.33	0.67	0.22
Rato 2	60 dias	Clínquer	89.78	4.89	4.89	0.22	0.22
Rato 3	60 dias	Clínquer	89.33	6.44	3.33	0.67	0.22
Rato 4	60 dias	Clínquer	90	3	6	0.67	0.33
Rato 5	60 dias	Clínquer	90.89	2.89	5.11	0.89	0.22
Rato 6	60 dias	Clínquer	92.44	4.22	3.33	0	0

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cél inflam
Rato 1	60 dias	CPM	88.32	5.33	4.44	1.89	0
Rato 2	60 dias	CPM	87.96	5.39	4.5	1.89	0.22
Rato 3	60 dias	CPM	89.29	4.44	5.11	0.89	0.22
Rato 4	60 dias	CPM	88	6.67	3.56	1.33	0.44
Rato 5	60 dias	CPM	91.56	4.44	3.56	0.44	0
Rato 6	60 dias	CPM	92.12	2.89	4.22	0.56	0.22

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cél inflam
Rato 1	60 dias	Controle	91.78	3.17	4.28	0.67	0.08
Rato 2	60 dias	Controle	92	5.02	2.22	0.61	0.17
Rato 3	60 dias	Controle	92.56	4.28	2.17	0.94	0.06
Rato 4	60 dias	Controle	91.44	4.39	2.31	1.61	0.22
Rato 5	60 dias	Controle	92.42	3.74	2.89	0.68	0.25
Rato 6	60 dias	Controle	92.61	4.11	2.06	0.98	0.24

Valores individuais (%) obtidos das estruturas avaliadas na região da Subcápsula

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cel inflam
Rato 1	15 dias	Clínq 5%	31.56	6.89	57.56	2.89	1.11
Rato 2	15 dias	Clínq 5%	34.66	3.56	58.89	2.00	0.89
Rato 3	15 dias	Clínq 5%	32.89	4.44	60.44	1.56	0.67
Rato 4	15 dias	Clínq 5%	43.11	2.22	53.56	0.67	0.44
Rato 5	15 dias	Clínq 5%	23.46	5.56	68.89	1.89	0.22
Rato 6	15 dias	Clínq 5%	28.67	2.67	65.57	2.44	0.67

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cel inflam
Rato 1	15 dias	Clínq 2%	35.33	4.67	56.44	3.33	0.22
Rato 2	15 dias	Clínq 2%	24.67	3.56	70.00	1.56	0.22
Rato 3	15 dias	Clínq 2%	34.22	1.78	61.33	2.44	0.22
Rato 4	15 dias	Clínq 2%	25.11	4.22	68.44	1.56	0.67
Rato 5	15 dias	Clínq 2%	28.44	2.67	66.00	2.22	0.67
Rato 6	15 dias	Clínq 2%	28.22	4.00	67.36	0.22	0.22

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cel inflam
Rato 1	15 dias	Clínquer	33.56	4.00	60.44	1.78	0.22
Rato 2	15 dias	Clínquer	40.24	2.89	53.56	2.67	0.67
Rato 3	15 dias	Clínquer	29.56	4.00	63.78	2.00	0.67
Rato 4	15 dias	Clínquer	34.89	3.78	60.44	0.89	0.00
Rato 5	15 dias	Clínquer	29.33	2.67	64.67	2.67	0.67
Rato 6	15 dias	Clínquer	28.00	5.33	63.56	2.67	0.44

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cel inflam
Rato 1	15 dias	CPM	20.00	4.44	75.56	0.00	0.00
Rato 2	15 dias	CPM	36.89	10.44	52.00	0.44	0.22
Rato 3	15 dias	CPM	19.78	4.44	75.78	0.00	0.00
Rato 4	15 dias	CPM	26.67	4.22	66.00	3.11	0.00
Rato 5	15 dias	CPM	33.33	2.67	60.89	3.11	0.00
Rato 6	15 dias	CPM	30.22	4.00	65.56	0.22	0.00

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cel inflam
Rato 1	15 dias	Controle	33.00	6.44	57.35	2.67	0.56
Rato 2	15 dias	Controle	34.39	4.56	59.20	1.50	0.33
Rato 3	15 dias	Controle	31.17	4.83	61.71	2.06	0.28
Rato 4	15 dias	Controle	31.11	3.28	63.52	1.67	0.45
Rato 5	15 dias	Controle	30.47	3.78	63.67	1.61	0.44
Rato 6	15 dias	Controle	31.20	3.89	62.39	2.17	0.39

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cel inflam
Rato 1	30 dias	Clínq 5%	39.56	2.00	56.00	2.22	0.22
Rato 2	30 dias	Clínq 5%	56.89	1.56	40.67	0.89	0.00
Rato 3	30 dias	Clínq 5%	41.56	3.11	53.78	1.33	0.22
Rato 4	30 dias	Clínq 5%	35.78	3.56	58.44	1.78	0.44
Rato 5	30 dias	Clínq 5%	43.69	4.56	49.33	2.00	0.44
Rato 6	30 dias	Clínq 5%	41.33	2.22	54.44	1.78	0.22

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cel inflam
Rato 1	30 dias	Clínq 2%	31.11	3.11	64.67	0.89	0.22
Rato 2	30 dias	Clínq 2%	35.78	3.11	60.00	0.89	0.22
Rato 3	30 dias	Clínq 2%	36.89	1.78	60.00	0.89	0.44
Rato 4	30 dias	Clínq 2%	41.33	1.33	54.89	2.00	0.44
Rato 5	30 dias	Clínq 2%	30.00	4.44	62.89	2.22	0.44
Rato 6	30 dias	Clínq 2%	44.44	2.67	50.67	1.78	0.44

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cel inflam
Rato 1	30 dias	Clínquer	41.78	3.78	52.26	2.00	0.22
Rato 2	30 dias	Clínquer	44.67	2.67	51.56	0.89	0.22
Rato 3	30 dias	Clínquer	39.56	1.33	57.75	0.67	0.67
Rato 4	30 dias	Clínquer	30.22	4.00	64.00	1.56	0.22
Rato 5	30 dias	Clínquer	42.44	1.56	54.89	0.89	0.22
Rato 6	30 dias	Clíquer	42.00	1.33	55.56	0.89	0.22

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cel inflam
Rato 1	30 dias	CPM	34.44	2.00	62.22	1.11	0.22
Rato 2	30 dias	CPM	36.00	2.67	60.67	0.67	0.00
Rato 3	30 dias	CPM	42.44	2.89	52.67	1.56	0.44
Rato 4	30 dias	CPM	40.89	2.00	56.00	0.67	0.44
Rato 5	30 dias	CPM	42.67	0.89	55.56	0.44	0.44
Rato 6	30 dias	CPM	41.56	1.78	54.89	1.33	0.44

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cel inflam
Rato 1	30 dias	Controle	39.61	3.67	54.96	1.56	0.22
Rato 2	30 dias	Controle	41.83	4.39	51.79	1.78	0.22
Rato 3	30 dias	Controle	38.22	1.78	58.77	0.89	0.33
Rato 4	30 dias	Controle	38.11	2.06	57.84	1.72	0.22
Rato 5	30 dias	Controle	40.22	1.39	56.46	1.50	0.39
Rato 6	30 dias	Controle	41.78	2.56	53.74	1.61	0.33

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cel inflam
Rato 1	60 dias	Clinq 5%	44.67	1.11	53.56	0.67	0.00
Rato 2	60 dias	Clinq 5%	43.78	0.89	53.78	1.33	0.22
Rato 3	60 dias	Clinq 5%	53.78	1.11	44.44	0.44	0.22
Rato 4	60 dias	Clinq 5%	49.78	2.00	46.89	0.89	0.44
Rato 5	60 dias	Clinq 5%	46.00	0.89	52.22	0.89	0.00
Rato 6	60 dias	Clinq 5%	51.11	2.00	45.56	0.89	0.44

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cel inflam
Rato 1	60 dias	Clinq 2%	48.22	0.89	49.56	0.89	0.44
Rato 2	60 dias	Clinq 2%	44.89	0.89	53.56	0.44	0.22
Rato 3	60 dias	Clinq 2%	44.00	0.67	53.78	1.11	0.44
Rato 4	60 dias	Clinq 2%	46.89	0.67	52.00	0.44	0.00
Rato 5	60 dias	Clinq 2%	45.11	0.44	53.33	0.89	0.22
Rato 6	60 dias	Clinq 2%	44.67	0.89	53.78	0.22	0.44

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cel inflam
Rato 1	60 dias	Clínquer	43.56	1.11	54.22	1.11	0.00
Rato 2	60 dias	Clínquer	44.67	0.67	53.33	1.33	0.00
Rato 3	60 dias	Clínquer	43.01	1.33	54.89	0.67	0.11
Rato 4	60 dias	Clínquer	42.67	1.00	55.40	0.67	0.22
Rato 5	60 dias	Clínquer	47.33	1.11	50.67	0.67	0.22
Rato 6	60 dias	Clínquer	53.56	0.89	44.60	0.89	0.11

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cel inflam
Rato 1	60 dias	CPM	47.56	1.33	50.44	0.44	0.22
Rato 2	60 dias	CPM	51.00	1.11	47.20	0.44	0.22
Rato 3	60 dias	CPM	50.86	0.89	46.89	1.33	0.00
Rato 4	60 dias	CPM	47.78	0.67	50.44	0.67	0.44
Rato 5	60 dias	CPM	51.11	0.44	47.11	1.11	0.22
Rato 6	60 dias	CPM	50.58	0.78	47.50	0.89	0.22

	Período	Material	Fib. Colág.	Fibroblts	Outros	Vas sang	Cel inflam
Rato 1	60 dias	Controle	49.17	1.17	48.83	0.78	0.06
Rato 2	60 dias	Controle	50.39	1.11	46.83	1.50	0.17
Rato 3	60 dias	Controle	47.89	1.17	50.06	0.56	0.33
Rato 4	60 dias	Controle	47.67	1.14	50.23	0.69	0.25
Rato 5	60 dias	Controle	50.50	1.11	47.28	0.89	0.22
Rato 6	60 dias	Controle	53.17	1.17	44.15	1.25	0.26