**BIOCOMPATIBILIDADE DOS CIMENTOS SEALER 26 E ÓXIDO DE ZINCO
E EUGENOL PROTEGIDOS OU NÃO COM DOIS DIFERENTES TIPOS
DE PRÓPOLIS. ANÁLISE EM TECIDO SUBCUTÂNEO DE RATOS.**

FERNANDA GOMES DE MORAES

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

**Bauru
2006**

**BIOCOMPATIBILIDADE DOS CIMENTOS SEALER 26 E ÓXIDO
DE ZINCO E EUGENOL PROTEGIDOS OU NÃO COM DOIS
DIFERENTES TIPOS DE PRÓPOLIS. ANÁLISE EM TECIDO
SUBCUTÂNEO DE RATOS.**

FERNANDA GOMES DE MORAES

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

Orientador: Prof. Dr. Clóvis Monteiro Bramante

Co-orientadora: Profa. Dra. Maria Cristina

Marcucci Ribeiro

Bauru

2006

Moraes, Fernanda Gomes

M791b Biocompatibilidade dos cimentos Sealer 26 e óxido de zinco e eugenol protegidos ou não com dois diferentes tipos de própolis. Análise em tecido subcutâneo de ratos. – Bauru 2006.

195p. : il. 30 cm

Tese. (Doutorado) -- Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo.

Orientador: Prof. Dr. Clovis Monteiro Bramante

Co-orientadora: Profa. Dra. Maria Cristina Marcucci

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

Assinatura:

Comitê de Ética da FOB

Nº do Protocolo: Proc. Nº 08/2004

Data de aprovação: 05/05/2004

FERNANDA GOMES DE MORAES

03 de janeiro de 1977

Nascimento

Bauru – SP

Ivaldo Gomes de Moraes

Filiação

Maria do Carmo de Oliveira Moraes

1996 – 1999

Curso de Odontologia
Universidade do
Sagrado Coração –
USC

2001 – 2003

Curso de Pós- Graduação
em Endodontia, em
nível de mestrado, na
Faculdade de
Odontologia de Bauru
da Universidade de São
Paulo

2003 – 2006

Curso de Pós-Graduação
em Endodontia, em
nível de doutorado, na
Faculdade de
Odontologia de Bauru
da Universidade de São
Paulo.

Associações

CRO – Conselho Regional
de Odontologia - SP

Atividade Docente

Professora na unidade de
Pós-Graduação da
UNINGA - Bauru

MENSAGEM ESPECIAL

Você tem Experiência de vida?

Já fiz cosquinha na minha irmã só pra ela parar de chorar.
Já me queimei brincando com vela. Eu
Já fiz bola de chiclete e melequei todo o rosto,
Já conversei com o espelho, e até
Já brinquei de ser bruxo.
Já quis ser astronauta, violonista, mágico, caçador e trapezista.
Já me escondi atrás da cortina e esqueci os pés pra fora.
Já passei trote por telefone.
Já tomei banho de chuva e acabei me viciando.
Já roubei beijo.
Já confundi sentimentos. Peguei atalho errado e continuo andando pelo desconhecido.
Já raspei o fundo da panela de arroz carreteiro.
Já me cortei fazendo a barba apressado.
Já chorei ouvindo música no ônibus.
Já tentei esquecer algumas pessoas, mas descobri que essas são as mais difíceis de esquecer.
Já subi escondido no telhado pra tentar pegar estrelas.
Já subi em árvore pra roubar fruta.
Já caí da escada de banda.
Já fiz juras eternas.
Já escrevi no muro da escola.
Já chorei sentado no chão do banheiro.
Já fugi de casa pra sempre, e voltei no outro instante.
Já corri pra não deixar alguém chorando.
Já fiquei sozinho no meio de mil pessoas sentindo falta de uma só.
Já vi pôr-do-sol cor-de-rosa e alaranjado.
Já me joguei na piscina sem vontade de voltar.
Já bebi uísque até sentir dormentes os meus lábios.

Já olhei a cidade de cima e mesmo assim não encontrei meu lugar.
Já senti medo do escuro.
Já tremi de nervoso.
Já quase morri de amor, mas renasci novamente pra ver o sorriso de alguém especial.
Já acordei no meio da noite e fiquei com medo de levantar.
Já apostei em correr descalço na rua.
Já gritei de felicidade.
Já roubei rosas num enorme jardim.
Já me apaixonei e achei que era para sempre, mas sempre era um "para sempre" pela metade.
Já deitei na grama de madrugada e vi a Lua virar Sol.
Já chorei por ver amigos partindo, mas descobri que logo chegam novos, e a vida é mesmo um ir e vir sem razão.
Foram tantas coisas feitas, momentos fotografados pelas lentes da emoção, guardados num baú, chamado coração.
E agora um formulário me interroga, me encosta na parede e grita: "Qual sua experiência?"
Essa pergunta ecoa no meu cérebro: Experiência... Experiência.
Será que ser "plantador de sorrisos" é uma boa experiência? Não!
Talvez eles não saibam ainda colher sonhos!
Agora gostaria de indagar uma pequena coisa para quem formulou esta pergunta:
"Experiência?
Quem a tem, se a todo momento tudo se renova?"

Autor desconhecido.

DEDICATÓRIA:

Dedico esse trabalho aos pais queridos **Ivaldo e Maria do Carmo** que não pouparam esforços para dar aos meus irmãos e a mim a melhor educação possível, nos enchendo de muito amor e carinho. Tenho orgulho de ser filha de vocês, farei de tudo para nunca decepcioná-los. Se hoje estou aqui é porque vocês, muitas vezes, privaram-se de muitas coisas.

Dedico, também, aos meus irmãos **Renata e Guilherme** que foram meus companheiros, conselheiros, amigos e, acima de tudo, pessoas que me ajudaram e torceram por mim.

Dedico, ainda, para meu amor **Júnior**, um homem maravilhoso que Deus colocou na minha vida, que é, acima de tudo um amigo e companheiro.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS:

Agradeço a *Deus*, Ser Supremo que me deu a vida, que sempre esteve junto a mim, inspirando-me e dando-me forças para superar qualquer tipo de dificuldade.

“ ... o maior tributo que o ser humano pode oferecer a Deus é sua própria realização, fruto do esforço, sacrifícios e obediência a seus altos preceitos, cumprindo assim Sua Vontade no aperfeiçoamento de suas faculdades, até alcançar a ser como Ele quis, quando o concebeu à Sua Imagem e Semelhança.”

Sabedoria Logosófica

Ao meu querido pai *Ivaldo*, é difícil colocar em um

papel o que o senhor representa para mim, tantas pessoas já escreveram agradecimentos maravilhosos para o senhor... Quero agradecer-lhe pelas intermináveis noites em que o senhor passou sem dormir cuidando de mim, pelas vezes em que me levou e me buscou na escola, pelas broncas, pelos conselhos, pelas vezes que torceu por mim no vestibular, pelo incentivo durante a faculdade, pelas vezes que me escutou reclamar, pela vibração no mestrado. Agradeço-lhe por ser meu pai, meu professor, um homem que sempre me orgulhou. Nunca poderei retribuir tudo o que o senhor fez por mim. Repetindo as palavras que escrevi na minha dissertação de mestrado... “Seu caráter e sua humildade são algo que sempre tentarei imitar.” Amo você!!!!

À minha mãe *Maria do Carmo* que, junto

com o meu pai, sempre cuidou de mim, doou-se totalmente a mim e aos meus irmãos, seu amor por nós é tão grande que só conseguirei entender no dia em que eu for mãe. Admiro sua coragem, a senhora é uma mulher de muita garra. Agradeço á senhora pela sua paciência comigo, pelo carinho que sempre me deu. Amo você!!

À minha querida irmã *Renata* que hoje,

fisicamente, esta morando longe de mim, mas mesmo assim permanecemos tão perto, minha melhor amiga, que sempre esteve comigo nos momentos mais felizes e mais tristes da minha vida, não tenho como agradecer o incentivo, o carinho, os conselhos e o companheirismo. Amo você!!

Ao meu querido irmão *Guilherme*, que mesmo

sendo meu irmão mais novo, sempre me ensina muitas coisas, por ser muito diferente de mim. Agradeço pela sua torcida, pela convivência e amizade. Amo você!!

Ao *Júnior*, uma pessoa muito especial que Deus

colocou na minha vida, que me apóia em muitas coisas, que sempre fica do meu lado, mesmo nos momentos mais difíceis, meu confidente de todas as horas, Você me ensina muitas coisas. Amo muito você, você é muito especial na minha vida!!!! Agradeço, também, pela ajuda com o Abstract.

“O verdadeiro amor não se expressa com palavras ocas, cheias de sonoridades para impressionar e cativar, senão com a eloqüência do silêncio, que é música de anjos, canto de virgens. Esse amor jamais se expressa com palavras, em falsas expressões de doçura, senão que vive no coração, sem contaminar-se com a atmosfera externa.”

Sabedoria Logosófica

Agradeço ao meu orientador *Prof. Dr.*

Clovis Monteiro Bramante, pela sua orientação precisa, pelos ensinamentos que me passou, demonstrando toda a sua bagagem científica. Admiro-o pela sua dedicação.

“O empenho inteligente é, em toda atuação, fator de triunfo”

Sabedoria Logosófica

Agradeço à minha co-orientadora *Profa. Dra.*

Maria Cristina Marcucci, uma mulher extraordinária, uma profissional competente, um ser humano adorável que abriu, literalmente, a porta da sua casa para mim. A sua orientação foi fundamental para o desenvolvimento desse trabalho.

“... quando, através da palavra de quem ensina, coincidente com seus atos, vão se descobrindo qualidades relevantes; e outra coisa é, também, quando, no que escuta e aprende, vai se manifestando a capacidade de assimilar; então, o que aprende, aprende de verdade, e quem ensina, ensina com consciência”

Sabedoria Logosófica

Ao *Prof. Gerson Francisco de*

Assis pela preciosa orientação no momento de interpretar os dados microscópicos.

*“Feliz aquele que transfere o que sabe e
aprende o que ensina”*

Cora Coralina

Agradeço:

Ao meu querido “irmão” **Everdan**, por todo esse tempo de convivência. Não tenho como agradecer toda a ajuda e carinho que você dedicou a mim. Apesar da distância sempre terei você no meu coração. Agradeço também, à sua esposa, e minha amiga, Maria Amélia pela amizade, a seus pais e seu irmão pelo carinho e atenção a mim dedicados.

À minha querida amiga **Tathi**, “companheira de clínica” na época da graduação, aprendi muitas coisas com você. Nossa amizade é muito importante para mim. Apesar da distância você está sempre no meu coração.

À minha amiga **Silvana** pelo carinho, pelos momentos de alegria que passamos juntas e pela certeza de que sempre poderei contar com seu apoio.

Aos meus amigos **Renato** e **Ulisses** por estarem sempre dispostos a me ensinar e passar suas experiências.

À **Tânia Mary Cestari** pela paciência que tem para com todos que dela necessita, pelo tempo que dedicou a mim; ensinando-me a analisar as lâminas e pela ajuda com as fotos e, principalmente, pela amizade

À funcionária **Danielle Ceolin**, em primeiro lugar, agradeço por toda paciência que teve para comigo, ensinando-me a montar as lâminas, não medindo esforços e tempo. Agora, quero agradecer à amiga **Dani**, uma pessoa incrível, uma amiga de todas as horas, muito obrigada por tudo, sentirei muita falta de nossas intermináveis conversas no laboratório.

À minha amiga **Cecília**, pela força que me deu, pelo incentivo e pela amizade. Admiro muito sua força de vontade e determinação.

Ao **Bruno Viscelli** pela amizade e ajuda na confecção deste trabalho.

À minha amiga **Natascha** pela força e incentivo durante a confecção deste trabalho e por todos os conselhos a mim oferecidos.

À minha grande amiga **Adriana** pela amizade que temos há mais de 3 anos, pelo incentivo e apoio em todos os momentos da minha vida.

A meus amigos **Christian** e **Analú** pelos anos de amizade.

Ao meu grande amigo **Eduardo Bortoluzzi** pela ajuda com as fotos, pelo companheirismo no começo do doutorado e pelas experiências trocadas.

Ao meu grande amigo **Fernando Orosco** por toda ajuda prestada durante a confecção deste trabalho. Agradeço, também, pela convivência e amizade desde o meu mestrado. Você é uma pessoa maravilhosa, muito rara nos dias de hoje. Obrigada pela amizade.

À **Carla Sipert** pela amizade e por toda a ajuda durante a confecção deste trabalho.

Aos meus companheiros de doutorado: **Everdan, Fábio, Giovana, Graziela, Renato, Rogério, Silvana, Ulisses, Viviane**, pela convivência e troca de experiência.

A todos os meus **colegas de Pós – Graduação**, que de uma forma ou outra, sempre me ensinaram algo.

“Em toda amizade deve cultivar-se o respeito, principalmente se essa amizade nos honra e é para nós, são e agradável.”

Sabedoria Logosófica

Agradeço ainda:

Ao **Professor Dr. Celso Kenji** por todo incentivo oferecido, pela oportunidade que me proporcionou de poder trabalhar ao seu lado e de toda a sua equipe. Nunca esquecerei o que você fez por mim, por toda confiança depositada e por tantos ensinamentos passados.

À **Professora Dra. Renata Pardini** pela amizade e por todos ensinamentos transmitidos.

À **Edna Bramante**, pela convivência no Centrinho, e pela amizade.

A todos os **Residentes do Centrinho de 2004/2006** pela convivência, saibam que aprendi muito com vocês, mas quero agradecer duas pessoas em especial: **Cláudia e Camila**, que foram muito mais do que colegas de profissão, pois, foram minhas verdadeiras amigas.

Aos **Funcionários do Departamento de Endodontia: Edimauro, D. Neide, Patrícia e Sueli**, pela amizade de tantos anos e por toda a ajuda prestada.

A todos os **Funcionários da UNINGÁ** que me receberam de braços abertos, principalmente a **Camilla** que se tornou uma grande amiga.

A todos os **meus alunos da UNINGÁ**, por me permitirem fazer uma das coisas que mais gosto, que é ensinar.

Aos amigos da turma atual de Mestrado em Endodontia: **Carla, Fernando, Ronan, Ramiro, Patrícia, Márcia, Roberta, Clarice e Bruno**, pela amizade e pela troca de experiência.

Aos amigos da turma atual de Doutorado em Endodontia: **Augusto, Adriana, Jácio, Ricardo e Fausto**, pela amizade.

Ao **Prof. Dr. Flávio** pela importantíssima ajuda no início do meu trabalho, com a busca na internet dos artigos sobre própolis.

Ao **Prof. Dr. Mauro Granjeiro** que proporcionou meu encontro com a Profa. Maria Cristina Marcucci.

A **Profa. Dra. Ângela**, que muito me ensinou no laboratório NaturaLabor, em Campinas.

Ao **Prof. Dr. Roberto Brandão Garcia** pelos ensinamentos transmitidos desde a época do mestrado, pela sua paciência e cordialidade.

Ao **Prof. Dr. Norberti Bernardineli** por todos os ensinamentos transmitidos.

Ao **Prof. Dr. Rumio Taga** que autorizou minha presença no laboratório de Histologia da FOB – USP.

Ao **Prof. Dr. Roberto Lauris** pela ajuda imprescindível na realização dos cálculos estatísticos.

A todos os **meus professores da Universidade do Sagrado Coração** por todos os ensinamentos passados, especialmente aos meus professores de Endodontia: **Silvio Fraga, Milton Kuga, Eliane, José Carlos Yamashita** e especialmente o professor **Marco Antonio Hungaro Duarte**, que foram os responsáveis pela minha iniciação na Endodontia.

Ao **Marco Antonio Hungaro Duarte** (Sal) e sua esposa **Daniela**, pela amizade e carinho por todos esses anos.

Aos amigos **Carlos Eduardo Carrara** e **Cleide Carrara** pela amizade de tantos anos e pelo carinho dedicado a mim.

A todos os meus **Professores da Pós – Graduação**, durante o Mestrado e durante o Doutorado.

A todos os **Funcionários do laboratório NaturaLabor** pela ajuda durante minha estadia em Campinas.

A **todos do Laboratório de Histologia da FOB – USP**, pela convivência e troca de experiência durante a confecção deste trabalho.

A todos os **Funcionários do Biotério**, pela paciência e por toda a ajuda prestada.

A todos os **Funcionários da Biblioteca**, principalmente **Rita, Valéria, César, Ademir e Vera**.

Aos **Funcionários da Pós-graduação**.

Aos **Funcionários do xérox Salvador, Adriana e Ana Paula**.

A **todos os meus familiares** que, de alguma forma, me ajudaram.

À **Faculdade de Odontologia de Bauru** representada,
hoje, pelo seu diretor **Prof. Dr. Luis Fernando Pegoraro**.

À comissão de pós-graduação, por meio de seu atual
presidente **Prof. Dra. Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado** ao ex-
presidente o **Prof. Dr. José Carlos Pereira**.

*“Recordar o bem recebido é fazer-se merecedor
de tudo quanto amanhã possa nos ser brindado”*

Sabedoria Logosófica

SUMÁRIO

Lista de Figuras.....	xxi
Lista de Tabelas.....	xxiv
Lista de Abreviaturas e Símbolos.....	xxv
Resumo.....	xxvi
1-Introdução.....	1
2-Revisão da Literatura.....	9
2.1- Própolis.....	11
2.1.1- Ação antiinflamatória e cicatrizante.....	17
2.2- Biocompatibilidade dos cimentos à base de óxido de zinco e eugenol e Sealer 26.....	24
3- Proposição.....	37
4- Material e Método.....	41
4.1- Extração e preparo da própolis.....	43
4.2- Seleção e cirurgia dos animais.....	47
4.3- Coleta das peças.....	60
4.4- Análise microscópica.....	61
4.5- Análise estatística dos dados histológicos.....	65
5- Resultados.....	67
5.1- Análise descritiva.....	69
5.2- Análise estatística.....	121
6- Discussão.....	137
6.1- Discussão da metodologia.....	139
6.2- Discussão dos resultados.....	142
7- Conclusões.....	157
Anexos.....	161
Referências.....	177
Abstract.....	193
Apêndice.....	197

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Própolis BRP –1.....	43
Figura 2 - Própolis MAR.....	43
Figura 3 - Própolis bruta.....	45
Figura 4 - Própolis bruta triturada.....	45
Figura 5 - Tricotomia manual na região dorsal do animal.....	49
Figura 6 - Região tricotomizada.....	49
Figura 7 - Anti-sepsia com álcool iodado.....	51
Figura 8 - Realização da incisão.....	51
Figura 9 - Incisões realizadas nas partes anterior e posterior.....	53
Figura 10 - .Divulsão do tecido.....	53
Figura 11 - Colocação do tubo na região incisada e divulsionada.....	55
Figura 12 -. Esquema da localização dos tubos de polietileno implantados no dorso dos animais.....	55
Figura 13 - Tubo de polietileno com a própolis BRP1 pincelada nas suas extremidades.....	57
Figura 14 - Tubo de polietileno com a própolis MAR pincelada nas suas extremidades.....	57
Figura 15 - Representação do escore.....	61
Figura 16 - Representação do escore.....	63
Figura 17 - Representação do escore.....	63
Figura 18 - Representação do escore.....	63
Figura 19 - Representação do escore.....	65
Figura 20 (A e B) - Sealer 26 puro com extravasamento (7 dias).....	71
Figura 21 - Sealer 26 puro sem extravasamento (7 dias).....	71

Figura 22 (A e B)- Sealer 26 / BRP1 com extravasamento (7 dias).....	73
Figura 23- Sealer 26 / BRP1 sem extravasamento (7 dias).....	75
Figura 24- Sealer 26 / MAR com extravasamento(7 dias).....	75
Figura 25- Sealer 26 / MAR sem extravasamento (7 dias).....	77
Figura 26- OZE puro sem extravasamento (7 dias).....	77
Figura 27- OZE / BRP1 com extravasamento (7 dias).....	79
Figura 28- OZE / BRP1 sem extravasamento (7 dias).....	81
Figura 29- OZE / MAR com extravasamento (7 dias).....	81
Figura 30- OZE / MAR sem extravasamento (7 dias).....	83
Figura 31- Controle – vazio (7 dias).....	85
Figura 32- Controle – guta-percha (7 dias).....	85
Figura 33 (A e B)- Sealer 26 puro com extravasamento (30 dias).....	87
Figura 34 (A e B)- Sealer 26 puro sem extravasamento (30 dias).....	89
Figura 35- Sealer 26 / BRP1 com extravasamento (30 dias).....	89
Figura 36- Sealer 26 / BRP1 sem extravasamento (30 dias).....	91
Figura 37 (A e B)- Sealer 26 / MAR com extravasamento (30 dias).....	93
Figura 38- Sealer 26 / MAR sem extravasamento (30 dias).....	93
Figura 39- OZE puro sem extravasamento (30 dias).....	95
Figura 40- OZE / BRP1 com extravasamento (30 dias).....	97
Figura 41- OZE / BRP1 sem extravasamento (30 dias).....	97
Figura 42- OZE / MAR com extravasamento (30 dias).....	99
Figura 43- OZE / MAR sem extravasamento (30 dias).....	101
Figura 44- Controle – vazio (30 dias).....	101
Figura 45- Controle – guta-percha (30 dias).....	103
Figura 46 (A e B)- Sealer 26 puro com extravasamento (60 dias).....	105

Figura 47- Sealer 26 puro sem extravasamento (60 dias).....	105
Figura 48- Sealer 26 / BRP1 com extravasamento (60 dias).....	107
Figura 49- Sealer 26/BRP1 sem extravasamento (60 dias).....	109
Figura 50- Sealer 26/MAR com extravasamento (60 dias).....	109
Figura 51- Sealer 26 / MAR sem extravasamento (60 dias).....	111
Figura 52- OZE puro sem extravasamento (60 dias).....	113
Figura 53- OZE / BRP1 com extravasamento (60 dias).....	113
Figura 54- OZE / BRP1 sem extravasamento (60 dias).....	115
Figura 55- OZE / MAR com extravasamento (60 dias).....	117
Figura 56- OZE / MAR sem extravasamento (60 dias).....	117
Figura 57- Controle – vazio (60 dias).....	119
Figura 58- Controle – guta-percha (60 dias).....	121
Figura 59- Gráfico das médias dos escores atribuídos ao número de macrófagos para cada material nos períodos de 7, 30 e 60 dias.....	123
Figura 60- Gráfico das médias dos escores atribuídos ao número de células gigantes para cada material nos períodos de 7, 30 e 60 dias.....	125
Figura 61- Gráfico das médias dos escores atribuídos ao número de fibroblastos para cada material nos períodos de 7, 30 e 60 dias.....	127
Figura 62- Médias dos escores atribuídos ao número de fibras colágenas para cada material nos períodos de 7, 30 e 60 dias.....	129
Figura 63- Gráfico das médias dos escores atribuídos ao número de vasos sanguíneos para cada material nos períodos de 7, 30 e 60 dias.....	131
Figura 64- Gráfico das médias dos escores atribuídos ao número de linfócitos para cada material nos períodos de 7, 30 e 60 dias.....	133

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estruturas químicas da própolis.....	7
Tabela 2 - Distribuição dos animais em função dos períodos, número de implantes e dos materiais em teste.....	59
Tabela 3- Médias dos escores atribuídos ao número de macrófagos, para cada material, nos períodos de 7, 30 e 60 dias.....	121
Tabela 4- Médias dos escores atribuídos ao número de células gigantes, para cada material, nos períodos de 7, 30 e 60 dias.....	123
Tabela 5- Médias dos escores atribuídos ao número de fibroblastos, para cada material, nos períodos de 7, 30 e 60 dias.....	125
Tabela 6- Médias dos escores atribuídos ao número de fibras colágenas para cada material nos períodos de 7, 30 e 60 dias.....	127
Tabela 7- Médias dos escores atribuídos ao número de vasos sanguíneos, para cada material, nos períodos de 7, 30 e 60 dias.....	129
Tabela 8- Médias dos escores atribuídos ao número de linfócitos, para cada material, nos períodos de 7, 30 e 60 dias.....	131
Tabela 9- Médias dos escores atribuídos ao número de estruturas histológicas, para cada cimento, no período de 7 dias.....	133
Tabela 10- Médias dos escores atribuídos ao número de estruturas histológicas, para cada cimento, no período de 30 dias.....	135
Tabela 11- Médias dos escores atribuídos ao número de estruturas histológicas, para cada cimento, no período de 60 dias.....	135

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

HPLC	High performance liquid chromatography (CLAE - cromatografia líquida de alta eficiência)
HPTLC	High performance thin layer chromatography (CCDAE - cromatografia em camada delgada de alta eficiência)
BRP	Própolis verde da região sudeste do Brasil. BR= Brasil, P= prenilados (principal componente)
BRP – 1	Própolis verde da região sudeste do Brasil com alta quantidade de prenilado
BRP-PR	Própolis verde específica do estado do Paraná
BRG	Própolis da região Sul do Brasil.
BRPG	Própolis da região entre o Sul e o Sudeste do Brasil.
MAR	Própolis vermelha do Nordeste brasileiro
g	grama
mL	mililitro
mg	miligrama
L	litro
%	porcentagem
PR	Paraná
RS	Rio Grande do Sul
GO	Goiás
MS	Mato Grosso do Sul
SP	São Paulo
MG	Minas Gerais

°C	Graus Celsius
CO₂	Gás Carbônico
CIM	Concentração inibitória mínima
LPS	Lipopolissacarídeos
LTB₄	Linfócitos B ₄
LTC₄	Linfócitos C ₄
PGE2	Prostaglandina
CAPE	cafeato de feniletila
NaOH	Hidróxido de sódio
NaOCl	Hipoclorito de sódio
μL	microlitro
h	hora
PMN	polimorfonucleados
H.E	Hematoxilina e eosina
AFM	Microscópico de Força Atômica
Kg	quilograma
mm	milímetro
cm	centímetro
nº	número
μ	micro
mim	minutos
OZE	óxido de zinco e eugenol

Resumo

“Biocompatibilidade dos cimentos Sealer 26 e óxido de zinco e eugenol protegidos ou não com dois diferentes tipos de própolis. Análise em tecido subcutâneo de ratos”.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a intensidade das reações inflamatórias do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos, ao implante dos cimentos Sealer 26 e óxido de zinco e eugenol protegidos ou não com 2 diferentes tipos de própolis. Foram utilizados 39 ratos, nos quais, após anestesia geral e tricotomia da região dorsal foram realizadas duas incisões longitudinais. Após divulsão do tecido subcutâneo, foram implantados 3 tubos de polietileno, sendo 2 na região anterior 1 na região posterior, com uma distância de 5 cm entre eles. Cinquenta e quatro tubos foram preenchidos com cimento de óxido de zinco e eugenol consistente. Desses 54 tubos, 36 sofreram aplicação de própolis em suas extremidades recobrimdo a área do cimento. Em 18, foi aplicada a própolis BRP1 e nos restantes a própolis MAR. Os demais tubos não sofreram tratamento nas extremidades. Outros 54 tubos foram preenchidos com Sealer 26, também consistente. Identicamente aos do grupo anterior, 36 deles tiveram as extremidades recobertas com própolis sendo metade com a própolis BRP1 e a outra com a própolis MAR. Os outros 18 não receberam aplicação da própolis. Os períodos experimentais foram de 7, 30 e 60 dias com 13 animais em cada período, sendo 12 com 3 tubos com os materiais experimentais e um que foi usado como controle, a que recebeu 4 tubos, 2 com guta-percha e 2 vazios. Após a morte dos animais, preparo das peças e obtenção dos cortes foram analisados os eventos microscópicos estipulando escores a cada situação apresentada. A aplicação das própolis recobrimdo os cimentos não alterou o comportamento dos mesmos, a própolis tipo MAR mostrou resultados mais favoráveis do que a BRP1, porém, sem diferença estatística significativa entre elas, o óxido de zinco e eugenol apresentou melhor comportamento biológico do que o Sealer 26. Os cimentos quando permaneceram nos tubos comportaram se melhor do que quando extravasados.

Palavras chaves: Endodontia, Própolis, Teste de biocompatibilidade

1- INTRODUÇÃO

1- Introdução:

O tratamento endodôntico, geralmente, apresenta uma alta taxa de sucesso, porém, quando ele falha ou a sua realização está impossibilitada a cirurgia parendodôntica é uma alternativa a ser utilizada.

Dentre as modalidades da cirurgia parendodôntica, a obturação retrógrada é uma delas. Ela consiste na curetagem do tecido de granulação de toda a loja cirúrgica, remoção de uma porção apical do dente envolvido (apicectomia), confecção de uma cavidade apicalmente, abrangendo o leito do canal, e o seu preenchimento com um material adequado.

A grande quantidade de cimentos endodônticos e de materiais retrobturadores existentes, hoje, na Endodontia, mostra, evidentemente, que ainda não existe um material ideal.

O material retrobturador deve ser capaz de promover um selamento apical hermético e prolongado, evitando a penetração de fluídos tissulares para o interior do canal, possuir atividade antimicrobiana, biocompatibilidade, insolubilidade nos fluídos intersticiais, radiopacidade e consistência adequada para fácil manipulação e aplicação.⁵²

Dentre os materiais utilizados podem ser citados: o amálgama, guta-percha, resina composta, IRM, cimento de Rickert, Renew, pasta Lysanda, Coe-Pak, cimento de ionômero de vidro, cimento de óxido de zinco e eugenol, Sealer 26, Super-EBA e o MTA⁴³. Este último apresenta boas propriedades biológicas, mas o seu manuseio e consistência deixam a desejar. Há uma certa dificuldade, por parte do operador, na aplicação desse material, na cavidade, devido à sua consistência, além de seu elevado preço, o que faz com que o operador lance mão de outros tipos de materiais, como os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol e o Sealer 26. Estes cimentos apresentam uma boa consistência e maior facilidade para aplicação nas cavidades retrógradas, principalmente, quando a proporção pó/líquido é aumentada. O ponto fraco desses materiais é a biocompatibilidade, por apresentarem o eugenol, no caso do cimento de óxido de zinco e eugenol, e a resina epóxica

(Bisfenol A) no caso do Sealer 26. Todavia, com o aumento da proporção pó/líquido, há uma tendência de melhora da biocompatibilidade desses materiais.

As propriedades biológicas dos materiais retrobturadores, bem como, dos cimentos obturadores, são de grande importância, uma vez que há um íntimo contato dos mesmos com os tecidos vivos. Por esse motivo, os testes de biocompatibilidade de um material devem ser realizados para que não se substitua a irritação causada pelas toxinas bacterianas por aquela advinda dos componentes químicos dos materiais⁴⁹.

Dentre as metodologias que avaliam a biocompatibilidade de um material, a análise microscópica de fenômenos teciduais em tecido subcutâneo de animais experimentais é uma delas¹¹².

Brunini, em 2003²⁵, avaliou as reações inflamatórias aguda e crônica proporcionadas pelos cimentos AH Plus, Sealer 26 e Endométhasone. Foi constatado que os cimentos Sealer 26 e o Endométhasone foram os que apresentaram maior reação inflamatória, tanto aguda quanto crônica. Outros autores relatam reações inflamatórias proporcionadas pelo Sealer 26 e por cimentos à base de óxido de zinco e eugenol^{45, 54, 96}.

Alguns autores testaram os cimentos de óxido de zinco e eugenol e o cimento Sealer 26 com diferentes proporções de pó/líquido. Holland et al, em 1971⁴⁷, avaliaram as reações do tecido subcutâneo de rato frente a alguns materiais obturadores de canais, manipulados em diferentes proporções pó-líquido e concluíram que essa influenciou na resposta biológica e que os materiais com menos líquido apresentaram menores irritações. A resposta inflamatória mais severa foi obtida com o óxido de zinco e eugenol principalmente quando o cimento tinha uma consistência mais fluida⁴⁸.

Com relação ao cimento Sealer 26, SACOMANI et al em 2001⁹⁰ constataram que não houve diferença na variação da proporção pó/líquido, sendo ambos bem tolerados pelos tecidos periapicais de dentes de cães. Já Tanomaru Filho et al, encontraram melhores resultados aumentando a

proporção pó/líquido do Sealer 26 quando utilizado em subcutâneo de ratos¹⁰⁴ e em dentes de cães¹⁰⁵.

Nos últimos anos, tem sido observado um crescente interesse pela medicina alternativa, para o controle das doenças, visando o restabelecimento do equilíbrio, como fonte de saúde¹⁷.

A própolis vem despertando interesse, pois, estudos realizados acerca de sua composição e farmacologia demonstram que a mesma possui propriedades bactericida³, analgésica^{3, 64}, anti-viral³, anti-cariogênica⁶⁴, antifúngica⁶⁴, antiinflamatória^{22, 64, 68, 95} e bioestimulante⁶⁴.

Ela é uma resina extraída, pelas abelhas, de flores, folhas e casca de árvores. Após a colheita, as abelhas incorporam, a essa resina, componentes enzimáticos existentes em suas salivas como a β glucosidase^{17, 21}.

A própolis é pouco solúvel em água¹⁷ e sua composição química varia conforme a região onde foi coletada³. Entre outros, seus principais componentes são os flavonóides, encontrados em pequenas porcentagens (2% a 4%) na própolis brasileira³, a qual é considerada a melhor do mundo devido à grande diversidade de plantas aqui existentes^{26, 44, 65, 72}. Os principais componentes de um tipo de própolis brasileira são os ácidos prenilados derivados do cinâmico e outros ácidos cafeoilquínicos⁷⁴. Ambos são responsáveis pelas atividades terapêuticas como a ação antiinflamatória, antibiótica, anti-séptica, cicatrizante e anestésica⁶⁸. Os constituintes das própolis se originam de 3 maneiras: plantas de onde a própolis é coletada, substância secretada pelo metabolismo das abelhas e materiais introduzidos durante a elaboração⁶⁵.

A própolis é conhecida desde a antigüidade, sendo utilizada por muitos povos, como os egípcios, para realização da mumificação, os gregos, como cicatrizante, os geórgios para interromper a cárie, os africanos para aliviar queimaduras e os incas para tratar a inflamação¹⁷.

Recentemente, muitos trabalhos, em relação ao uso terapêutico da própolis, vêm sendo desenvolvidos.

A ação de regeneração tecidual produzida pela própolis foi relatada por Scheller et al, em 1977⁹⁴, que constataram uma aceleração na neoformação da cartilagem articular de cães, provocada por uma pomada à base de própolis. Stojko et al, em 1978¹⁰¹, encontraram que o extrato alcoólico de própolis acelerou o processo de osteogênese de defeitos realizados no osso rádio de cães. Na polpa a própolis, também, mostrou-se eficaz, possuindo ação antiinflamatória⁹⁴ e, inclusive, auxiliando na formação de barreira dentinária²⁴.

Marcucci (2000)⁶⁶ analisou diversas amostras de própolis quantificando os componentes bioativos. Observou quatro diferentes tipos de própolis brasileira (baseado nos marcadores identificados por HPLC) com as seguintes características: BRP, BRP-PR, BRG e BRPG. O tipo BRG é caracterizado por apresentar os marcadores vanilina, coniferaldeído (3-metóxi-4-hidroxicinamaldeído) e I (2-[1-hidroximetil]-vinil-6-acetil-5-hidroxicumarano). O tipo BRP(PR) apresenta os compostos 2,2-dimetil-6-carboxietenil-2H-1-benzopirano, ácido 2,2-dimetil-8-prenil-2H-1-benzopirano-6-propenóico, o ácido 3-prenil-4-hidroxicinâmico e o ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (Artepillin C) como marcadores principais. O BRP(SP/MG) apresenta os marcadores principais ácido cafeico, o ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico e o ácido p-cumarico. Foram encontrados, dentro do tipo BRP, três sub-grupos, a saber: a) com alto teor de compostos bioativos (BRP – 1), b) com teor médio (BRP – 2) e c) baixo teor (BRP – 3). O tipo BRPG forma a interface entre os tipos BRP(PR) e BRG, com compostos desses dois grupos. As estruturas químicas se encontram na tabela 1.

Tabela 1- Estruturas químicas dos principais componentes das própolis.

<p>Ácido 2,2-dimetil-8-prenil-2H-1-benzopirano-6-propenóico (DPB)</p>	<p>Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (DHCA)</p>
<p>Ácido 2,2-dimetil-2H-1-benzopirano-6-propenóico (DCBEN)</p>	<p>Ácido 3-prenil-4-hidroxicinâmico (PHCA)</p>
<p>Vanilina (G1)</p>	<p>3-Metoxi-4-hidroxicinamaldeído (composto G2 – coniferaldeído)</p>

Mais atualmente, uma própolis vermelha proveniente do Nordeste brasileiro também teve seus componentes identificados, e esses são pouco conhecidos: *trans*-anetol, metil-eugenol, isoeugenol, elemicina, *trans*-

isoelemicina, cicloartenol, lupeol, e flavonóides, como isosartivan, entre outros e, sobre ela existem apenas os estudos de Trusheva et al., 2006¹⁰⁷.

Borreli et al, em 2002²², deduziram que a ação antiinflamatória da própolis é devida à presença do cafeato de feniletila, encontrada em própolis provenientes da Europa.

Literaturas recentes mostram que o cafeato de feniletila é um antioxidante que inibe o fator nuclear Kappa B. Tal fator é importante em neuroinflamações e é associado a algumas neuropatologias. Respostas inflamatórias cerebrais são inibidas pelo ácido cafeico²⁰.

Ozturk et al, em 2000⁸⁴, realizaram trabalhos em córneas de coelhos observando que os efeitos da dexametasona e da própolis eram similares em relação à cura de injúrias químicas nas córneas, concluindo que a própolis tem uma ação antiinflamatória comparável a da dexametasona.

A própolis está sendo utilizada na odontologia, principalmente, devido às suas ações bactericida e antiinflamatória^{64, 68}.

Sendo a própolis uma resina natural, pouco solúvel em água, com várias propriedades medicamentosas importantes, ela pode ser uma alternativa, se utilizada como um selante após as retrobturações, sendo aplicada sobre a superfície dentinária exposta após a apicectomia, bem como, sobre o material retrobturador, isolando-o, e auxiliando no reparo, uma vez que possui características antibacteriana, antiinflamatória e cicatrizante. Aliás, pelo seu poder antibacteriano, a própolis pode ter utilidade em casos onde possa persistir alguma contaminação.

Assim, de início, torna-se pertinente um estudo do comportamento da própolis em tecido conjuntivo subcutâneo de rato, quando aplicada sobre alguns cimentos utilizados em retrobturação.

2- REVISÃO DE LITERATURA:

2- Revisão de Literatura:

2.1- Própolis:

Lindenfelser, em 1967⁵⁸, realizou um teste *in vitro* da atividade antibacteriana de 15 espécies de própolis coletadas de diferentes regiões dos EUA. A maioria das espécies demonstrou boa atividade antimicrobiana, principalmente sobre Gram positivos, e, também, ação antifúngica. Algumas espécies mostraram uma menor atividade e o autor atribuiu esse fato, provavelmente, às diferentes concentrações dos agentes presentes em algumas espécies individuais.

Por meio de uma revisão de literatura, GHISALBERT, em 1979⁴⁰, descreveu que a presença da própolis dentro das colméias impede o crescimento de bactérias e de outros microorganismos. Os elementos que compõem a própolis se diferenciam conforme a região em que ela é produzida, mas alguns componentes se destacam, tais como: os flavonóides, que exercem efeito antiinflamatório em articulações, pele e mucosa, os ácidos cafeico e ferúlico que são responsáveis pela ação antibacteriana em alguns microorganismos Gram positivo e Gram negativo, vitaminas B1, B2, B6, C e E. E principalmente, na própolis norte americana, pode-se encontrar também: ferro, alumínio, vanádio, estrôncio, manganês, silício, ácido benzóico, álcool benzil, ácido sórbico e eugenol.

SZEWCZAK; GODOY, em 1984¹⁰³, testaram a sensibilidade de *Staphylococcus aureus* em relação a 4 tipos de misturas de própolis. Os resultados mostraram que a própolis exerceu ação inibitória sobre as amostras daquela espécie bacteriana, quando utilizado o método da difusão em ágar. Provaram, também, que os solventes utilizados no preparo da própolis não exerceram efeito sobre os microorganismos. Os autores citaram que o ácido ferúlico é o responsável pelos efeitos antibacterianos.

FRANCO; KUBERAYASHI, em 1986³⁷, identificaram e dosaram flavonóides, que pudessem servir como parâmetros de qualidade. As amostras testadas foram: 12 soluções alcoólicas de própolis em diferentes

concentrações, 12 soluções hidroalcoólicas de própolis, 4 tipos de mel contendo própolis e 1 tipo de mel puro. Os métodos utilizados para a identificação foram a cromatografia em papel e o dosamento espectrofotométrico. As principais classes de flavonóides apareceram nos produtos contendo própolis; no mel puro não se detectou a presença de flavonóides; nas soluções alcoólicas foi encontrado um teor elevado, variando de 0,24 a 7,5g/100mL e nas soluções hidroalcoólicas um teor mínimo, variando de 0,007 a 0,05g/100mL.

MILLER; LILENBAUM, em 1988⁷³, avaliaram a atividade antibacteriana da tintura de própolis frente a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus β hemolítico*, *Echerichia coli* e *Proteus mirabilis*. Foram realizados testes de sensibilidade e determinação da concentração mínima inibitória para os efeitos bactericida e bacteriostático da própolis, em relação àqueles esses microorganismos. A própolis exerceu ação inibitória perante todos os microorganismos. Os solventes utilizados no preparo da tintura não exerceram efeito inibitório. As concentrações inibitórias mínimas para os efeitos bacteriostáticos e bactericida, respectivamente, foram: para o *Staphylococcus aureus* 3,3mg/mL e 72,6mg/mL, para o *Streptococcus β hemolítico* 6,6mg/mL e 46,2mg/mL, para a *Echerichia coli* 7,2mg/mL e 66g/mL e para o *Proteus mirabilis* 5,8mg/mL e 52,8mg/mL.

HERNANDEZ; BERNAL, em 1990⁴⁶, avaliaram “in vitro” a ação do extrato etanólico de própolis sobre 100 cepas de *Streptococcus aureus* obtidas de pacientes, comparando-o com 6 antibióticos convencionais. As cepas mostraram ser muito resistentes aos antibióticos utilizados (ampicilina 15g, cloranfenicol 30g, estreptomicina 10g, ampicilina 10g e tetraciclina 30g). O extrato alcoólico de própolis mostrou uma grande atividade antibacteriana inibindo 95% das cepas.

KEDZIA; GEPPERT; IWASZKIEWICZ, em 1990⁵³, avaliaram algumas propriedades farmacológicas do extrato etanólico de própolis em ratos. O mesmo, segundo os autores, pode ser considerado não

tóxico, possui propriedade sedativa, com decréscimo das atividades espontâneas, podendo inclusive superar os efeitos da cocaína. A injeção intravenosa provocou o aumento da pressão arterial, mas, com a administração durante 5 dias, houve uma diminuição da mesma, retornando ao normal. Na musculatura lisa os efeitos foram: contrações que podem se estender por um tempo maior ou menor dependendo da concentração do extrato etanólico, provocou, também, um aumento na excreção de bile quando comparado com o grupo controle, diminuiu o número de úlceras estomacais experimentais e manteve a quantidade de açúcar no sangue em níveis normais.

FOCHT et al, em 1993³⁶, investigaram o efeito bactericida da própolis sobre bactérias causadoras de infecções respiratórias. A própolis utilizada foi um extrato aquoso da Dinamarca que possui alguns componentes como: ácido cafeico, ácido cinâmico, ácido isofelúrico e ácido 3-4 metoxicinâmico. O extrato aquoso possui de 2 a 3% dos bioflavonóides da própolis no seu estado bruto. As bactérias utilizadas foram colhidas e isoladas de pacientes com doenças respiratórias crônicas ou agudas. O extrato aquoso de própolis a 13% foi usado para determinar, tanto a concentração mínima bactericida, como a concentração mínima inibitória. O método utilizado foi a técnica do micro caldo diluído. A concentração do extrato aquoso de própolis a 12,5g/L teve um efeito bactericida em diferentes espécies de bactérias, apenas o *S. pneumoniae* mostrou uma sobrevivência maior, provavelmente, segundo os autores, devido à sua proteção capsular. O extrato aquoso de própolis a 13% demonstrou atividade bactericida, mas esta concentração pode ser aplicada apenas localmente, pois não tem ação sistêmica.

FUENTES; HERNANDEZ, em 1993³⁸, compararam “in vitro” a atividade antimicrobiana de diferentes extratos etanólicos de própolis frente a um total de 6 cepas bacterianas e, também, a influência da agitação, na extração dos princípios ativos da própolis. A própolis utilizada foi de Havana (Cuba). O preparo do extrato etanólico foi feito da seguinte maneira: a quantidade de 100g de própolis, no seu estado natural, foi triturada e homogeneizada e, então, foi dividida em 10 grupos de 10g. Cada grupo de 10g

foi misturado em 100mL de etanol, em diferentes concentrações, quais sejam: 50%, 60%, 70%, 80% e 90%. Para cada concentração um grupo sofria agitação e outro não, totalizando os 10 grupos. Após 5 dias realizava-se a filtração obtendo-se a 1ª solução; a sobra, no papel filtro (resíduos da própolis) era passada, novamente, pelo mesmo processo, 2 vezes, obtendo-se, assim, a 2ª e a 3ª soluções. As cepas bacterianas testadas foram *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* sp. A atividade antimicrobiana das soluções de própolis foi analisada pelo método da difusão em ágar. Todas as soluções apresentaram atividades antibacteriana frente às cepas testadas. Não se encontrou diferença estatística significativa entre as concentrações de álcool utilizado no preparo do extrato. A 1ª solução teve maior atividade antimicrobiana, do que a 2ª e a 3ª, que apresentaram atividade similar. A maior atividade antimicrobiana foi sobre cepas de microorganismos tipo Gram positivo e resultados parciais sobre as cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. A agitação não influenciou na extração dos princípios ativos e nem provocou diferença na atividade antibacteriana.

Em 1994, WOISKY; GIESBRECHT; SALATINO¹¹⁰ verificaram a ação bacteriana da própolis “*in vitro*”. A própolis testada encontrava-se incorporada em balas, na forma de extrato mole e foi coletada no estado do Paraná. Essas balas possuíam concentrações de 2,5%, 1,0% e 0,65% de extrato mole de própolis. A atividade antibacteriana observada mostrou que as balas apresentaram atividade contra microorganismos piogênicos (*Staphylococcus* e *Streptococcus*) sendo essa atividade, exclusivamente, devido à própolis.

ANTUNES; CATÃO; CEBALLOS, em 1996⁴, avaliaram a atividade antimicrobiana “*in vitro*” de 2 soluções etanólicas de própolis, determinando a C.I.M. e a atividade antimicrobiana dessas soluções, frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas. As duas soluções apresentaram ação antibacteriana semelhante nas diluições de 2,5% e de 5%. As bactérias Gram positivas tiveram menor resistência que as Gram negativas.

A própolis brasileira induz à ativação de algumas células. Para comprovar isso, TATEFUJI et al, em 1996¹⁰⁶, usaram seis componentes solúveis em água, da própolis brasileira, proveniente de Manaus. Os componentes identificados foram: ácido 5-cafeoilquinico, ácido cloregênico, ácido 4- cafeoilquinico, ácido 4,5-dicafeoilquinico, ácido 3,5- dicafeoilquinico e ácido 3,4- dicafeoilquinico. Esses componentes aumentaram a motilidade e a difusão dos macrófagos.

MURRAY; WORTHINGTON; BLINKHORN, em 1997⁸⁰, avaliaram a formação de placa bacteriana após bochechos com uma solução contendo 10% de extrato alcoólico de própolis e, também, com uma solução de clorexidina. Foi feito um estudo duplo cego, no qual as pessoas faziam bochechos 2 vezes ao dia, por 5 dias, com os produtos em teste, sem fazer nenhum outro tipo de higiene bucal. Além da própolis utilizou-se o Periogard[®] (clorexidina) e um placebo. Ao final de 5 dias era feito um exame avaliando a quantidade de placa existente. O Periogard[®] (clorexidina) apresentou os melhores resultados. Já os bochechos contendo própolis produziram uma inibição de 14% na formação da placa bacteriana, todavia, apresentou uma diferença significativa quando se comparou com o placebo.

Em 1997, PARK et al⁸⁵ avaliaram a quantidade de flavonóides existentes em própolis das regiões Centro Oeste, Sudeste e Sul do Brasil, e, também, se os extratos etanólicos provenientes dessas própolis possuem atividades antimicrobianas. Foram utilizadas quarenta e cinco tipos de própolis dos estados de São Paulo, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Dois gramas dessas própolis foram misturados em 25mL de álcool a 80%, a 70°C, por 30 minutos e, após esse tempo, foi feita uma centrifugação e o sobrenadante do extrato etanólico foi utilizado no experimento. Para determinar a concentração total de flavonóides, 0,1mL do extrato etanólico foi diluído em 0,9mL de álcool 80%; dessa mistura foi retirado 0,5mL e colocado em um tubo de ensaio contendo 0,1mL de nitrato de alumínio, 1mL de acetato de potássio e 4,3mL de álcool 80%. Após 40 minutos foi feita a análise do total de flavonóides pela

espectrofotometria e, também, pelos métodos de HPTLC e HPLC, que são métodos que analisam a presença de flavonóides por meio da cromatografia. Para avaliar a propriedade antimicrobiana da própolis, em uma placa de agar, foram cultivadas cepas de *Staphylococcus aureus* e *Echerichia coli*. Os flavonóides são diferentes para cada tipo de própolis: no Paraná e Rio Grande do Sul são similares, já em Minas Gerais, São Paulo, Goiás e Mato Grosso do Sul são diferentes dos encontrados no Paraná e Rio Grande do Sul. A quantidade de flavonóides, nos extratos, também difere: PR, RS, GO, MS possuem 7 tipos de flavonóides; SP e MG possuem 9 tipos. Todos os tipos de extrato etanólico de própolis provocaram inibição do crescimento do *Staphylococcus aureus*, o que não ocorreu em relação à *Echerichia coli*.

MANARA et al, em 1999⁶⁴, fizeram uma revisão sobre o uso da própolis na Odontologia. As propriedades salientadas foram: efeito anestésico, porém, sem poder penetrante; como material de capeamento pulpar, auxiliando na formação de ponte dentinária; em algumas concentrações pode levar à mumificação da polpa; em cirurgia oral acelera a epitelização de feridas, além do efeito antiinflamatório e analgésico; ação em aftas com diminuição dos sintomas dolorosos, ação anti-cariogênica devido à presença dos ácidos cafêico e cinâmico, porém, pode causar alergia.

PINHEIRO; SIMIONATO; ODA, em 2003⁸⁹, avaliaram o cimento ionomérico convencional, sozinho ou associado a 1 e 5% de própolis ou a outros componentes, quanto à capacidade de inibir *S.mutans*. Foram formados 5 grupos: Grupo 1 – cimento de ionômero de vidro, Grupo 2 – cimento de ionômero de vidro mais 1% de própolis, Grupo 3 - cimento de ionômero de vidro mais 5% de própolis, Grupo 4 - cimento de ionômero de vidro mais 1% de metronidazol, 1% de ciprofloxacina e 1% de cefaclor e Grupo 5 - cimento de ionômero de vidro mais 1% de solução alcoólica. Cada grupo foi dividido em 2 subgrupos. Em um deles, após a espatulação e a presa do cimento, os corpos de prova permaneceram em 2 mL de água destilada por 48 horas, em temperatura ambiente, antes de serem colocados em ágar e, no outro subgrupo, imediatamente após a espatulação os corpos de prova foram

colocados no ágar em cavidades preparadas no mesmo. Nas placas de ágar foram semeadas suspensões bacterianas, após a colocação dos cimentos. As placas permaneceram 48 horas em estufa, a 37°C, com atmosfera de 5% de CO₂ e, após esse período, foram medidos os halos de inibição. Os autores concluíram que a associação de antibióticos com o cimento de ionômero de vidro convencional aumentou o potencial antibacteriano, mesmo após 48 horas da espatulação. O acréscimo de 5% de própolis apresentou uma atividade antibacteriana superior à do cimento de ionômero de vidro convencional, logo após a espatulação.

MURATA et al, em 2002⁷⁹, analisaram a propriedade antimicrobiana “in vitro” da própolis originária das regiões do Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Bahia (Caatinga), Bahia (Mata Atlântica) e Pernambuco. Os testes foram realizados utilizando-se os microorganismos: *Porphyromonas gingivalis*, *P. endodontalis*, *P. asaccharolytica*, *Prevotella intermedia*, *P. nigrescens*, utilizando os métodos de halo de inibição em ágar e CIM. As própolis do Rio Grande do Sul, Paraná e Bahia (Mata Atlântica) exibiram maiores zonas de inibição e menores CIMs para todos os microorganismos testados. As própolis inibiram a atividade microbiana, mas ela foi dependente da região da coleta dessa própolis e da sua composição química.

2.1.1- Ação antiinflamatória e cicatrizante:

STOJKO et al, em 1978¹⁰¹, avaliaram o efeito do extrato etanólico de própolis na regeneração de defeitos experimentais feitos em tecido ósseo. Para esse estudo foram utilizados 20 cães de ambos os sexos, nos quais, com auxílio de uma broca, foram realizadas, na parte mediana do osso rádio, 3 cavidades até atingir o osso medular. A distância entre as cavidades era de 1cm. Em 10 cães na 1ª cavidade foi aplicada uma pomada contendo 3% de extrato etanólico de própolis com atividade antimicrobiana comprovada; na 2ª cavidade foi colocada uma pomada neutra sem própolis e na 3ª foi colocada uma pasta contendo 3% de extrato etanólico de própolis que não inibe o

crescimento bacteriano. Os 10 cães restantes serviram como controle, nos quais não foi aplicado nenhum tipo de medicamento nas cavidades. O efeito do extrato etanólico de própolis na osteogênese foi controlado radiograficamente com intervalos de 2 semanas. A primeira radiografia foi feita logo após a cirurgia, a segunda após 2 semanas e a radiografia controle final feita na 4ª semana. Clinicamente, não houve diferença entre os grupos, porém, em relação à análise radiográfica, o grupo com extrato etanólico de própolis teve o processo de osteogênese acelerado e a pomada com extrato etanólico de própolis com atividade antimicrobiana teve maior atividade. Depois de 2 semanas a cavidade com extrato etanólico de própolis estava praticamente cicatrizada e, após a 4ª semana não havia evidências de cavidade. Contudo, na cavidade que recebeu a pomada neutra um novo osso, ainda, estava sendo formado. No grupo controle, depois de 4 semanas, não havia sinal de formação óssea. O extrato etanólico de própolis mostrou ter efeito na aceleração da osteogênese, principalmente, quando ele apresenta uma ação antimicrobiana. Os autores afirmaram que essa aceleração na osteogênese é devido à estimulação do metabolismo tecidual proporcionado pelo extrato etanólico de própolis.

MAGRO FILHO et al, em 1987⁶¹, avaliaram, histologicamente, a reação e o reparo do tecido conjuntivo de rato em contato com tubo de polietileno preenchido com uma pomada de confrei, própolis e mel. Foram utilizados 42 ratos, sendo que cada animal recebeu o implante de 2 tubos, um com o medicamento e o outro, sem. Três animais de cada grupo foram mortos nos períodos de 2, 5, 10, 20, 30, 40 e 60 dias pós-operatórios. Na análise microscópica o grupo com medicamento apresentou melhores resultados até os 10 dias pós-operatórios; a partir dos 20 dias, pode-se observar uma tentativa de fagocitose do medicamento, mas sem reações severas. Os autores acreditaram que o medicamento tem uma boa biocompatibilidade, com aceleração do processo de reparo até os 10 primeiros dias, decrescendo depois, provavelmente, em função da presença do veículo, 10% de vaselina e lanolina. Os autores concluíram que há uma aceleração na

neo-formação do tecido conjuntivo, fraca infiltração de neutrófilos e esporádicas infiltrações de linfócitos, histiócitos e células multinucleadas e que esse medicamento é uma opção para aplicações superficiais.

SILVEIRA et al, em 1988⁹⁷, avaliaram a ação da própolis em pacientes com gengivite crônica comparando com o tratamento convencional, além de comparar a sua atuação em aftas bucais, tendo o placebo como controle. Nos pacientes com gengivite crônica foi aplicado no sulco gengival, com auxílio de uma seringa, extrato de própolis, 3 vezes por semana em dias alternados durante um mês. A própolis favoreceu um reparo mais rápido e melhor dos tecidos periodontais. Dos 40 casos de gengivite 28 estavam clinicamente curados em 30 dias. Já, em relação ao grupo controle, 16 estavam curados, 17 com inflamação leve e 7 com inflamação moderada. Nos pacientes com úlceras recorrentes aplicava-se própolis ou placebo na afta após secagem e repetia-se essa manobra após 24 horas. As lesões tratadas com própolis tiveram uma melhor cicatrização e, em 24 ou 48 horas, os sintomas dolorosos já haviam diminuído, com avançada recuperação. Não foram observados efeitos indesejáveis. Os efeitos antimicrobiano, cicatrizante, anestésico e um aumento da resposta imune local, proporcionados pela própolis, parece favorecer uma regressão mais rápida dos sintomas dolorosos.

BERNARDO et al, em 1990¹⁷, realizaram uma pesquisa no Ambulatório de Cirurgia Vascular da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo com o intuito de avaliar a evolução do reparo de feridas cutâneas de pacientes e, também, os potenciais bactericida e bacteriostático da própolis. Os pacientes eram orientados a trocar os curativos uma ou duas vezes ao dia e observar as reações alérgicas e sensibilidade dolorosa. A ferida era limpa com soro fisiológico e, então, aplicava-se a própolis em solução a 3% ou o extrato a 30%; dependendo da sensibilidade do paciente o extrato podia ser diluído com água destilada. As feridas foram observadas e medidas quanto ao comprimento e a largura. Os autores constataram que, após o tratamento, houve uma melhora no odor, na sensibilidade dolorosa e uma diminuição do

número de microorganismos. Quanto maior a concentração de própolis mais rapidamente aconteceu a cicatrização.

MAGRO FILHO; CARVALHO, em 1990⁶², avaliaram, histologicamente, em ratos, o efeito da aplicação tópica da solução de própolis em alvéolo dentário, após a extração e, em ferida, na pele dos animais. Para esse estudo, foram utilizados 45 ratos, dos quais, foi removido um fragmento de pele de 5mm de diâmetro e extraído o incisivo superior direito. Os ratos foram divididos em 3 grupos: Grupo 1, sem tratamento, Grupo 2, aplicação de solução hidroalcoólica 10% (1mL de álcool 96% em 9mL de água destilada) no alvéolo, logo após a extração, e aplicação diária na pele e Grupo 3 aplicação de solução hidroalcoólica de própolis 10% (1mL de extrato alcoólico de própolis em 9mL de água destilada) no alvéolo, logo após a extração e aplicação diária na pele. Os animais foram mortos no período de 3, 6, 9, 15 e 21 dias para análise microscópica. Na pele, a solução hidroalcoólica de própolis acelerou a epitelização, mas, na concentração utilizada, não influenciou no reparo do alvéolo após a extração.

MIRZOEVA; CALDER, em 1996⁷⁵, avaliaram o efeito da própolis e de compostos sintéticos na secreção de lipoxigenase e coxigenase produzida por macrófagos, na produção de eicosanóide durante a inflamação aguda "in vivo" e no metabolismo do ácido aracdônico. Para isso, foram feitos três testes. No primeiro, acrescentou-se, na dieta de um grupo de ratos, a própolis em uma proporção de 0,2% por peso, no segundo foi feita uma cultura de células com macrófagos isolados de ratos e a esses macrófagos foram oferecidas substâncias por 2 horas para sintetizar leucotrienos e, LPS, por 24 horas, para sintetizar prostaglandina e, então, foram adicionados os inibidores ou a própolis. No terceiro, para avaliação da inflamação aguda foi aplicado 1mg de zimosam em 1mL de PBS estéril na cavidade peritoneal dos ratos. Junto com o zimosam foram aplicados os inibidores ou a própolis. Os animais foram mortos 30 minutos após a aplicação. A quantidade de LTB₄, LTC₄ e PGE₂ da cultura de células e do fluído peritoneal foi medida pelo teste ELISA. O extrato etanólico de própolis anulou a produção de prostaglandina e leucotrienos pelos

macrófagos peritoniais durante a inflamação aguda. A dieta com própolis anulou significativamente o “caminho” da lipoxigenase no metabolismo do ácido aracdônico durante a inflamação. O cafeato de feniletila (CAPE) foi o modelador mais potente da cascata do ácido aracdônico, dos componentes da própolis, analisados. A dieta com própolis afetou a resposta inflamatória diminuindo a produção de LTB₄ e LTC₄, mas não afetou a produção de PGE₂. A própolis contém muitos inibidores potentes da produção de eicosanóides que podem afetar a resposta imune e inflamatória e o CAPE é o principal componente que confere propriedade antiinflamatória à própolis.

BRETZ et al, em 1998²⁴, avaliaram a capacidade reparativa da polpa dentária, após capeamento direto com solução etanólica de própolis coletada no Sudeste brasileiro. Para este estudo foram utilizados 25 ratos, nos quais foram feitas cavidades tipo classe V na cúspide mésio-vestibular no 1º molar superior, com uma broca de 0,6mm de diâmetro, expondo-se a polpa. Em 13 dentes a polpa foi protegida com cimento de hidróxido de cálcio (Life) e em 12 dentes foi colocada solução alcoólica de própolis a 20%, preparada da seguinte maneira; 20g de própolis de Volta Redonda, no estado bruto, foram trituradas e colocadas em 100mL de álcool etílico absoluto deixando por uma noite; essa solução foi filtrada, colocada em um evaporador rotatório até que a mesma se tornasse uma pasta densa, que era aplicada sobre a polpa. Após o tratamento, todos os dentes foram restaurados com resina. Os animais foram mortos nos períodos de 5, 7, 10 e 14 dias, e os dentes examinados microscopicamente nos seguintes parâmetros: presença de fibroblastos, resposta pulpar, presença de células inflamatórias, ausência de microorganismos, organização de suprimento de sangue e formação de tecido mineralizado. Os resultados mostraram que não houve diferença entre a própolis e o cimento de hidróxido de cálcio; aos 5 dias a própolis mostrou-se superior por não iniciar uma reação inflamatória, contar com presença de fibroblastos, formação de dentina reparativa e não apresentar contaminação. Ao 14º dia o hidróxido de cálcio mostrou leve superioridade, mas sem diferença significativa. A própolis exibiu propriedade antiinflamatória

com formação de ponte de dentina. Os resultados mostraram a eficiência da própolis e que a mesma pode ser usada em combinação com agentes protetores da polpa.

MAHMOUD et al, em 1999⁶³, usaram extrato de própolis no tratamento de hipersensibilidade dentinária, aplicando-o no local da exposição dentinária. Os autores notaram uma redução no incômodo relatado pelos pacientes.

BARBOSA, em 2002¹¹, verificou a eficiência da própolis no processo de reparo de lesões ulceradas da mucosa bucal de ratos. Nos animais do grupo experimental, aplicações diárias de extrato alcoólico de própolis, enquanto que, no grupo controle, aplicou-se solução salina. Os animais foram divididos em 4 sub-grupos que foram sacrificados aos 2, 7, 14 e 21 dias após o experimento. As peças foram submetidas à análise microscópica observando-se que, a partir do 7º dia, houve diminuição significativa na intensidade do processo inflamatório e no 21º ausência da inflamação nos grupos onde foi aplicado própolis. O autor concluiu que a própolis favoreceu o processo de reparo.

ÖZTURK et al, em 2000⁸⁴, investigaram o efeito antiinflamatório da aplicação tópica de própolis em olhos de coelho com injúria química comparando-o com o da dexametasona. Foram utilizados 24 coelhos, os quais tiveram seus olhos direitos injuriados quimicamente com a colocação, por 30 segundos, de um disco de papel de filtro contendo hidróxido de sódio (NaOH). Esses animais foram divididos em 3 Grupos: Grupo 1- controle- no qual foi realizado tratamento com antibiótico sistêmico e aplicação de 1 gota de 50µL de sulfato de trombamicina e solução tampão, de 12 em 12 horas; Grupo 2 – antibiótico sistêmico e aplicação de 1 gota de 50µL de dexametasona, de 6 em 6 horas; Grupo 3 - cobertura antibiótica (sistêmico) e aplicação de 1 gota de 50µL de extrato etanólico de própolis a 1%, de 6 em 6 horas. Os parâmetros estudados foram a hiperemia ciliar, edema central da córnea e edema periférico da córnea, nos períodos de 24 e 72h, e aos 5º e 7º dias. No 7º dia os

animais foram mortos para se observar a quantidade de PMNs. Houve uma diminuição dos parâmetros em todos os grupos, mas, estatisticamente significativa apenas nos grupos 2 e 3. A dexametasona apresentou superioridade apenas nas primeiras 24 horas. A diferença entre a própolis e a dexametasona não foi estatisticamente significativa e na análise microscópica as duas substâncias foram similares. A ação antiinflamatória pode ser atribuída aos componentes flavonóides, ácido fenólico e ácido cafeico. Os autores concluíram que a própolis tem ação antiinflamatória comparada a da dexametasona no tratamento de injúria química nas córneas.

PERUCHI et al, em 2001⁸⁸, analisaram o efeito da própolis sobre a cicatrização de feridas induzidas em dorso de ratos. Foram utilizados 36 ratos que foram divididos em 3 grupos: Grupo I: aplicação de álcool 96% nas feridas, 4 vezes ao dia, de 6 em 6 horas; Grupo II: aplicação de solução alcoólica de própolis a 10% nas feridas, 4 vezes ao dia, de 6 em 6 horas; Grupo III: aplicação de solução alcoólica de própolis a 30% nas feridas, 4 vezes ao dia, também, de 6 em 6 horas. Três ratos de cada grupo foram mortos nos períodos de 3, 5, 10 e 14 dias do pós-operatório. Houve uma grande vantagem no uso da própolis, mas foi observado que a concentração de 10% foi melhor que a de 30%; já que esta última promoveu um atraso na cicatrização. A própolis apresentou uma neoformação de fibras colágenas e, já no 3º dia a própolis a 10% promoveu uma ligeira neoformação epitelial adjacente.

AL-SHADER, em 2004², estudou o efeito da própolis em fibroblastos da polpa dental e do ligamento periodontal, comparando-a com o hidróxido de cálcio. As células foram obtidas de 3º molares saudáveis extraídos de humanos. Os fibroblastos foram isolados e foram feitas culturas de células. As células foram submetidas à ação de várias concentrações de própolis variando de 0 a 20 mg/mL. Essa própolis foi obtida na região de Piracicaba e estava em forma de extrato alcoólico ou preparado em dimetilsulfato; o hidróxido de cálcio foi dissolvido em RPMI 1640 variando a concentração entre 0-250mg/mL. A viabilidade das células foi analisada por

meio do manchamento do cristal violeta, seguido pela análise espectrofotométrica. A presença de 2 ou 4 mg/mL de própolis resultou em 50% de viabilidade das células após 20 horas, independentemente do solvente utilizado. Este estudo mostrou que concentrações solúveis em água exerce uma toxicidade mínima em fibroblastos tanto do ligamento periodontal como de polpa dentária até a concentração de 4mg/mL. Analisando as mesmas concentrações de própolis e hidróxido de cálcio ficou evidente que a própolis mostrou menor toxicidade. As observações sugerem que a própolis tem propriedades antimicrobianas, antifúngicas e antiviral e capacidade de aumentar a resposta imune, portanto, pode oferecer uma alternativa na medicação intracanal por causa da sua menor citotoxicidade.

MARTIN; PILEGGI, em 2004⁶⁹, avaliaram o potencial da própolis em manter viáveis as células do ligamento periodontal, após uma simulação de dente avulsionado. Para isso, foram utilizados 70 dentes recém extraídos que foram divididos em 5 grupos experimentais e 2 controles. As soluções testadas foram: solução salina de Hank, leite, solução salina, extrato etanólico de própolis 50% e extrato etanólico de própolis 100%. Os extratos de própolis mostraram superioridade em relação às outras substâncias, com diferença estatística significativa. Em relação às diferentes concentrações de própolis não houve diferença estatística significativa.

2.2- Biocompatibilidade dos cimentos à base de óxido de zinco e Sealer 26:

GLASS; ZANDER, em 1949⁴¹, avaliaram a reação do tecido pulpar de dentes jovens após capeamento com uma pasta de hidróxido de cálcio e água destilada ou uma pasta de óxido de zinco e eugenol. As polpas protegidas com óxido de zinco e eugenol apresentaram reações inflamatórias crônicas e as com hidróxido de cálcio, após 4 semanas, apresentaram reparo com formação de barreira de dentina e aparecimento de uma nova camada de odontoblastos.

Em 1970, ERAUSQUIN³³ avaliou a reação inflamatória em tecido periapical de dentes de ratos, após obturação com cimento de óxido de zinco, de titânio, de chumbo e de alumínio. Os animais foram mortos após 7, 30 e 90 dias de realizada a obturação. Os óxidos de alumínio e titânio foram os que provocaram maior aparecimento de macrófagos que fagocitavam as partículas, induzindo uma reação inflamatória progressiva e persistente; o óxido de titânio provocou as reações mais severas, já os óxidos de chumbo e zinco foram bem tolerados pelos tecidos periapicais.

Em 1971, HOLLAND et al⁴⁷ avaliaram as reações do tecido subcutâneo de rato frente a alguns materiais obturadores de canais, manipulados em diferentes proporções pó-líquido. Foram implantados tubos de polietileno em tecido subcutâneo de ratos contendo os seguintes materiais: óxido de zinco e eugenol, pyocidina com sulfa, composto de Wach, pasta de Rickert, pasta alfa canal e cloropercha. A quantidade de pó era constante, o que variou foi a quantidade de líquido. Os animais foram mortos no período de 5, 10 e 30 dias e as peças removidas foram analisadas em microscópio óptico. Os autores concluíram que a proporção pó-líquido influenciou na resposta biológica e que as pasta com menos líquido apresentaram menores irritações. A resposta inflamatória mais severa foi obtida com o óxido de zinco e eugenol.

HOLLAND et al, em 1973⁴⁸, avaliaram a biocompatibilidade de 4 tipos de cimentos obturadores à base de óxido de zinco e eugenol, implantando tubos de polietileno no tecido conjuntivo subcutâneo de ratos, preenchidos total ou parcialmente, e variando as proporções pó-líquido. Após 30 dias de pós-operatório, os animais foram mortos, realizando-se a análise microscópica. Evidenciou-se uma resposta inflamatória mais intensa na presença de tubos preenchidos com pasta de consistência mais fluida.

CRANE et al, em 1980³⁰, ao avaliarem cimentos com e sem eugenol, observaram que os cimentos que não apresentavam essa substância em sua composição eram mais compatíveis, biologicamente.

OLSSON; SLWKIWSKI; LANGE LAND, em 1981⁸¹, avaliaram a citotoxicidade dos materiais endodônticos Kerr Pulp Canal Sealer, AH 26 e Kloropercha, implantando tubos de teflon em tecido subcutâneo de ratos. Após 14, 30, 90 e 180 dias os animais foram mortos e, ao exame microscópico, todos os materiais mostraram-se irritantes, independente do período de estudo. Observaram a presença de células inflamatórias crônicas e agudas, material sendo fagocitado por macrófagos e células gigantes.

CATANZARO GUIMARÃES; PERCINOTO, em 1984²⁸, estudaram o efeito do hidróxido de cálcio, óxido de zinco e eugenol e AH 26 sobre o fluxo de macrófagos e sobre a taxa de fusão dessas células para formar granulomas em tecido conjuntivo de ratos. Os períodos analisados foram 4, 8, 12, 24, 30 e 40 dias. O óxido de zinco e eugenol apresentou uma alta toxicidade para macrófagos, enquanto que, o hidróxido de cálcio proporcionou um efeito considerado pequeno.

BENATI NETO et al, em 1986¹⁴, avaliaram a reação tecidual da região periapical de dentes de cães após a obturação com os cimentos AH 26, óxido de zinco e eugenol (puro), Fill canal e Endométhasone. Os canais dos 2º e 3º pré-molares de cães foram instrumentados e obturados com cones de guta-percha e com os cimentos a serem testados. Noventa dias após a obturação os animais foram mortos e a região periapical analisada por meio do microscópico óptico. Os cimentos AH 26 e óxido de zinco e eugenol (puro) apresentaram um comportamento biológico mais favorável, tanto junto ao coto periodontal, quanto na região periapical. Já o cimento Fill Canal foi o que apresentou uma maior agressividade.

BERGAMINI, em 1988¹⁶, avaliou a biocompatibilidade dos cimentos Endométhasone, Fill canal, Sealer 26 e Sealapex implantando tubos de polietileno, contendo esses cimentos, em tecido conjuntivo subcutâneo de camundongos. A análise foi feita após os períodos de 7, 15, 30 e 60 dias. Todos os cimentos mostraram-se irritantes e as reações inflamatórias variaram conforme o cimento e o período analisado. O Sealer 26

e o Sealapex foram os cimentos menos irritantes, o Endométhasone provocou uma reação inflamatória intermediária e o Fill canal foi o cimento mais irritante.

LEAL; HOLLAND; ESBERARD, em 1988⁵⁵, avaliaram a biocompatibilidade dos cimentos CRCS, Sealapex, Fill canal e N-Rickert implantando tubos de polietileno, preenchidos com esses cimentos, em tecido subcutâneo de rato. Após os períodos de 7, 21 e 60 dias os animais foram mortos, os fragmentos de tecido contendo os tubos foram analisados microscopicamente. Todos os materiais mostraram reações inflamatórias em intensidades diferentes. Nos primeiros períodos o Sealapex e o N-Rickert apresentaram uma reação moderada e o CRCS e Fill canal, reação intensa; já no período mais tardio o Sealapex, CRCS e N-Rickert exibiram reação inflamatória discreta e o Fill canal uma reação mais acentuada, porém, menos intensa do que nos períodos iniciais.

ORSTAVIK; MJÖR, em 1988⁸², compararam a biocompatibilidade de alguns cimentos endodônticos, inclusive, cimentos à base de óxido de zinco e eugenol e resina. Foram implantados tubos de polietileno preenchidos com os cimentos em teste, em tecido conjuntivo de rato. Os períodos de análise foram de 17 e 90 dias. Os cimentos à base de resina provocaram uma pequena reação tecidual; já os à base de óxido de zinco e eugenol apresentaram reações mais severas; os cimentos AH 26 e Hydron (resinosos) apresentaram macrófagos fagocitando componentes metálicos pesados.

YESILSOY et al, em 1988¹¹¹, avaliaram as reações microscópicas do tecido conjuntivo de cobaias frente à implantação dos cimentos de Grossman, Eucapercha, Endofill, CRCS, Selapex e Hypocal. Os cimentos foram preparados e imediatamente injetados no tecido, com uma distância de 20mm entre as aplicações. Os animais foram mortos nos períodos de 6, 15 e 80 dias, e o grau de inflamação foi estipulado a partir da contagem do número de células inflamatórias. Os cimentos Sealapex e Endofill foram os que exibiram uma resposta inflamatória menos severa nos períodos iniciais, em relação aos demais cimentos. Nos períodos mais tardios todos os cimentos

apresentaram uma inflamação moderada, sem diferença entre eles; no final de 80 dias pode-se observar calcificações nos espécimes com cimentos contendo hidróxido de cálcio.

WENNERBERG, em 1989¹⁰⁹, avaliou a biocompatibilidade dos cimentos de Grossman, Tubli seal, Sealapex, Kloropercha NO, AH 26 e Diaket. Os cimentos foram implantados em tecido muscular de coelhos e a análise microscópica foi feita após os períodos de 1, 7, 14, 60 e 180 dias. Pôde-se observar que o cimento de Grossman provocou uma reação discreta e constante em todos os períodos analisados, enquanto que para os outros cimentos, houve uma regressão na intensidade da reação inflamatória, com o passar do tempo.

SOARES et al, em 1990⁹⁸, avaliaram a resposta dos tecidos periapicais de dentes de cães após obturação com cimentos Sealapex, CRCS e óxido de zinco e eugenol. Para esse estudo foram instrumentados 120 canais, os quais tiveram o forame apical arrombado e o batente apical realizado com uma lima do tipo K número 45. Após a instrumentação os canais foram obturados pela técnica da condensação lateral utilizando cones de gutapercha e os cimentos em teste. Os animais foram mortos após 30 e 180 dias de pós-operatório. Na análise microscópica os resultados não mostraram diferenças entre as respostas teciduais provocadas pelos cimentos, quando os mesmos atingiam o limite do batente apical, observando-se a presença de um tecido conjuntivo com células inflamatórias crônicas. Houve deposição de tecido mineralizado nas paredes laterais dos canais radiculares, levando ao fechamento do forame apical, independentemente do cimento utilizado.

GULATI et al, em 1991⁴⁵, avaliaram reações teciduais frente a cimentos de óxido de zinco contendo eugenol ou glicerina, como componente líquido do cimento. Após a manipulação dos materiais, obtendo-se uma consistência fina, o material foi injetado no tecido conjuntivo de ratos. Decorridos os períodos de 1, 7 e 15 dias os animais foram mortos. A análise microscópica revelou que o cimento contendo eugenol proporcionou uma

elevada reação inflamatória, o que não ocorreu com o cimento contendo glicerina.

PASCON et al, em 1991⁸⁶, testaram a biocompatibilidade dos cimentos endodônticos AH26, Kerr Pulp Canal Sealer e Kloropercha. Foram utilizados 21 babuínos, dos quais, 121 dentes tiveram os canais instrumentados e obturados com cones de guta-percha e com os cimentos em teste. Os períodos de avaliação foram 1, 7, 30, 365, 730 e 1095 dias. Os resultados revelaram que, nos períodos iniciais, 1 e 7 dias, o AH 26 causou uma inflamação severa, o Kerr Pulp Canal Sealer uma reação moderada e a Kloropercha uma reação suave. Nos períodos mais tardios, 2 e 3 anos, o AH 26 apresentou reação suave, o Kerr Pulp Canal Sealer reação, ainda, moderada e a Kloropercha uma reação severa.

ORSTAVIK; MJÖR, em 1992⁸³, avaliaram os efeitos dos cimentos AH 26, Endométhasone, Kloropercha e Procosol considerando as análises radiográfica e microscópica. Os canais radiculares com polpa viva de dentes de macaco foram instrumentados e obturados pela técnica da condensação lateral com guta-percha e com os cimentos em experimentação. Radiograficamente, após 6 meses, foi possível observar patologia periapical em 6 raízes de um total de 60. Microscopicamente, também, após 6 meses, foram observadas algumas inflamações periapicais. Das 9 raízes obturadas com AH 26, 2 apresentaram inflamações moderadas e 1, inflamação suave; no grupo obturado com Endométhasone, de 7 raízes, 1 apresentou inflamação moderada; no grupo obturado com Kloropercha, das 7 raízes, 1 apresentou inflamação suave e no grupo do Procosol, das 7 raízes, 1 apresentou inflamação suave também.

Em 1993, ARAKI et al⁵ avaliaram, em cultura de células, a citotoxicidade de 2 cimentos endodônticos. Os cimentos tinham, em comum, na composição, o pó, que era o mesmo para os dois cimentos variando o líquido, que era o eugenol para um cimento e ácidos oleosos para o outro. Os dois materiais mostraram-se citotóxicos logo após a espatulação,

porém, após 24 horas do endurecimento ou uma semana, apenas o cimento que continha eugenol continuava sendo citotóxico.

Ainda, em 1993, BARBOSA; ARAKI; SPANGBERG¹² avaliaram a citotoxicidade dos cimentos Fill canal, N-Rickert, pasta F. S. e Sealer 26 em culturas de células de tecido conjuntivo, utilizando o contato direto e indireto, pelo método da liberação de cromo. Todos os cimentos mostraram-se muito tóxicos, tanto em relação ao contato direto como ao indireto. O Sealer 26 mostrou-se um pouco menos tóxico, principalmente, no método do contato indireto.

Em 1994, BERBERT; CONSOLARO¹⁵ avaliaram a influência dos cimentos Sealapex, CRCS e óxido de zinco e eugenol na migração neutrofílica utilizando o teste de "Skin Window". Para esse estudo foram utilizados 10 voluntários nos quais foram realizadas 4 escarificações na pele, de forma circular e profundidade dermo-papilar, na região ventral do antebraço esquerdo. Nessas escarificações foram colocadas lamínulas de vidro contendo 1 gota do cimento recém espatulado e na quarta escarificação era colocada uma lamínula com vaselina, como controle. Essas lamínulas permaneceram em posição por 3 horas e, passado esse período, foram removidas, mantidas em álcool-éter por 15 minutos, coradas em H.E. e analisadas em microscópio óptico. O grupo do óxido de zinco e eugenol apresentou neutrófilos com características morfológicas normais e distribuição difusa na periferia da área escarificada, porém, a maioria das lamínulas mostrou uma zona livre de células contígua à periferia imediata do material. Este foi o cimento que apresentou maior quimiotaxia para os neutrófilos. No grupo do CRCS os neutrófilos apresentavam uma relação direta com a superfície do material, houve um aumento da densidade citoplasmática, mas notou-se uma conservação na sua estrutura. Em relação à quimiotaxia foi um material considerado intermediário. No grupo do Sealapex os neutrófilos apresentaram relação direta com a superfície do cimento, as células mostraram avidez por fagocitá-lo, foi notada uma deformação no citoplasma, algumas granulações intracitoplasmáticas e, com freqüência, observou-se ruptura da

membrana. Dos três cimentos testados foi o que menos exerceu quimiotaxia para neutrófilos.

Em 1995, ECONOMIDES et al³² estudaram a biocompatibilidade dos cimentos endodônticos Sealapex, CRCS, AH 26 e Roth 811, e, também, a influência desses materiais sobre a concentração de cálcio e zinco nos tecidos de ratos. Para esse estudo foram utilizados 75 ratos (machos e fêmeas), nos quais foram implantados tubos de teflon contendo os cimentos a serem testados. Os animais foram mortos nos períodos de 7, 14 e 21 dias. Para a análise da concentração de cálcio e zinco nos tecidos, 25 ratas, do período de 7 dias tiveram o cérebro, fígado, rim e útero removidos. Após análise microscópica, os resultados evidenciaram que o AH 26, no período de 7 dias, foi o cimento que apresentou maior irritabilidade ao tecido, mas a reação inflamatória foi diminuindo com o passar do tempo. Já os cimentos Roth 811 e o Sealapex induziram reações inflamatórias moderadas e severas e o CRCS uma reação suave para moderada. Em relação à concentração de zinco e cálcio encontrada nos tecidos, foi possível verificar que os cimentos CRCS e o Roth 811 causaram uma redistribuição de zinco e o AH 26 alterou o conteúdo de cálcio em alguns órgãos.

Também, em 1995, GEROSA et al³⁹ avaliaram a citotoxicidade dos cimentos endodônticos AH 26, Kerr Pulp Canal Sealer, Rocanal – R2, Rocanal – R3, Bioseal e Endométhasone em culturas de células de fibroblastos humanos, usando a medição espectrofotométrica após o período de 24, 48 e 72 horas. O AH 26 apresentou citotoxicidade severa, os cimentos Kerr Pulp Canal Sealer e Endométhasone uma baixa toxicidade e os demais provocaram reações de moderada a severa, dependendo do período observado.

Ainda, em 1995, MITTAL; CHANDRA; CHANDRA⁷⁶ avaliaram a reação tecidual provocada pelos cimentos de óxido de zinco e eugenol, Tubli Seal, Sealapex e Endoflas F. S. injetando 0,1mL desses cimentos, com consistência fina, em subcutâneo de rato. Utilizaram, para a injeção, uma seringa com uma agulha Gauge 18. Os animais foram mortos

após 48 horas, 7, 14, 30 e 90 dias e as peças removidas foram analisadas, microscopicamente. Os resultados evidenciaram uma reação inflamatória severa com formação de edema e necrose, provocada por todos os cimentos, exceto pelo Sealapex que provocou uma reação de moderada a suave, no período de 48 horas. Aos 7 dias a reação continuou severa nos demais cimentos, diminuindo no grupo do Sealapex. No grupo do óxido de zinco e eugenol, ainda, era possível observar edema e necrose. Aos 14 dias a reação se tornou moderada para todos os cimentos, sem presença de necrose. Aos 30 dias uma reação moderada, ainda, era observada nos grupos do Tubli Seal e do Endoflas F. S. Nos grupos do Sealapex e do óxido de zinco e eugenol a reação era suave. Nesse período, era possível observar a formação de uma cápsula fibrosa ao redor dos cimentos. Aos 90 dias nenhuma inflamação foi observada em qualquer dos cimentos e uma evidente cápsula fibrosa foi formada.

VALERA, em 1995¹⁰⁸, avaliou a biocompatibilidade dos cimentos endodônticos Sealapex, Apexit, Sealer 26 e Ketac Endo, bem como a capacidade de selamento apical e, ainda, realizou a análise ultra-estrutural dos cimentos utilizando a técnica de microscopia de força atômica (AFM). Para o estudo da biocompatibilidade foram implantados tubos de polietileno em tecido subcutâneo de ratos e os animais foram mortos após 14 e 90 dias. A avaliação microscópica mostrou que todos os cimentos apresentaram uma diminuição na reação inflamatória após 90 dias, exceto o Sealapex; o Sealer 26 foi o cimento que apresentou menor resposta inflamatória nos dois períodos de avaliação. Aos 90 dias houve uma diminuição fibroblástica em todos os grupos experimentais e a proliferação angioblástica só diminuiu nos grupos do Sealer 26 e Ketac Endo.

BEZERRA et al, em 1997¹⁹, injetaram os cimentos Sealapex, CRCS, Apexit e Sealer 26 no tecido conjuntivo subcutâneo e na cavidade peritoneal de camundongos para avaliar a resposta inflamatória provocada por esses materiais. No teste do tecido subcutâneo os cimentos foram manipulados e, após a presa, foram triturados, peneirados e 1mg foi

diluído em 1mL de PBS e 0,1mL da suspensão e, então, injetados. Após o período de 2, 4, 8 e 16 dias os animais foram mortos e os fragmentos onde foram injetadas as substâncias foram removidos para análise microscópica. No outro teste, a suspensão foi injetada na cavidade peritoneal e, após os períodos de 6 e 24 horas e 5 e 15 dias, os animais foram mortos, a cavidade peritoneal foi lavada com 2mL de PBS, que após a colheita, sofreu processamento para análise no microscópio óptico. No teste do tecido conjuntivo subcutâneo foi possível observar, na fase inicial, uma grande quantidade de leucócitos polimorfonucleados para todos os cimentos e com uma expressão maior no CRCS e Apexit. Em alguns casos havia um tecido necrótico circundando o infiltrado. Na fase intermediária houve uma redução do número de polimorfonucleados, principalmente, em relação ao cimento Sealapex, seguido pelo CRCS, Apexit e Sealer 26. Na fase tardia havia poucos neutrófilos, mas, uma intensa reação granulomatosa, ainda, era observada e os espécimes, referentes aos cimentos Sealer 26, CRCS e Apexit, apresentavam áreas com necrose. O teste da cavidade peritoneal mostrou que todos os cimentos testados provocaram um aumento significativo na quantidade de neutrófilos. No período de 6 horas o Apexit induziu o aparecimento do maior número de neutrófilos, seguido pelo Sealer 26, Sealapex e CRCS. Após 24 horas o Sealapex, CRCS e Apexit induziram uma neutrofilia menor. Nos demais períodos houve uma redução no número de neutrófilos, sem diferença entre os grupos.

Também, em 1997, LEONARDO et al⁵⁶ avaliaram a reação tecidual na região periapical provocada pelos cimentos Sealapex, CRCS, Apexit e Sealer 26 após biopulpectomia e obturação de canais de dentes de cães. Oitenta raízes de dentes de 4 cães tiveram seus canais instrumentados e, então, obturados com cones de guta-percha e com os cimentos em teste. Decorridos 180 dias os animais foram mortos, as raízes removidas para análise microscópica. O Sealapex foi o cimento que melhor se comportou, permitindo deposição de tecido mineralizado, promovendo selamento completo do forame apical. Com o CRCS o selamento do forame foi

parcial, identificou-se a presença de infiltrado inflamatório moderado. Os cimentos Apexit e Sealer 26 não promoveram selamento apical, na maioria dos casos. O infiltrado inflamatório observado foi considerado severo nos espécimes do Apexit e leve ou ausente nos casos tratados com o Sealer 26.

KOLOKOURIS et al, em 1998⁵⁴, implantaram tubos de teflon, contendo os cimentos Apexit e Pulp Canal Sealer, em tecido conjuntivo subcutâneo de rato e analisaram a reação tecidual ocorrida nos períodos de 5, 15, 60 e 120 dias após o implante. Os resultados mostraram que os dois cimentos foram irritantes no período inicial, tendo o Apexit apresentado maiores extensões de necrose. A inflamação sofreu uma diminuição nos períodos mais longos, todavia, mesmo nesses períodos, o cimento Pulp Canal Sealer, ainda, apresentava-se mais irritante do que o Apexit.

AZAR et al, em 2000⁶, avaliaram a citotoxicidade dos cimentos AH Plus, AH 26 e óxido de zinco e eugenol utilizando o método de análise de citotoxicidade do vermelho neutro em culturas de células nos períodos de 1, 4, 8, 24, 48 horas, 5 dias, 1, 2, 4 e 5 semanas. O óxido de zinco e eugenol provocou um efeito citotóxico detectado logo na 1ª hora, que permaneceu alto até o final do experimento. O efeito citotóxico apresentado pelo AH 26 durou 1 semana, reduzindo com o passar do tempo. O AH Plus mostrou efeito citotóxico nos períodos iniciais, não sendo mais detectado, após 4 horas.

Também, em 2000, LEONARDO et al⁵⁷ avaliaram a citotoxicidade dos cimentos Sealapex, CRCS, Apexit, Sealer 26 e Fill Canal, por meio da análise microscópica das mudanças morfológicas, em macrófagos peritoneais de ratos. Os resultados evidenciaram que o Sealapex foi o cimento mais citotóxico, com diferença estatística em relação aos demais cimentos. O Fill Canal foi menos citotóxico seguido pelo CRCS, Sealer 26, Apexit, sem diferenças estatísticas entre eles.

FIGUEIREDO et al, em 2001³⁵, avaliaram a resposta tecidual dos cimentos N-Rickert, Fill Canal, AH 26 e Sealer 26 após a injeção dos mesmos na submucosa oral de coelhos e em implantes de tubos de

polietileno, em tecido subcutâneo dos mesmos animais. A análise microscópica foi feita após os períodos de 30, 60 e 90 dias. O Fill Canal foi o cimento mais irritante, provocando uma reação inflamatória de alta intensidade, seguido pelo N-Rickert e AH 26 e por último o Sealer 26, que provocou uma reação de baixa intensidade.

Ainda em 2001, SACOMANI et al⁹⁰ avaliaram as reações provocadas pelos cimentos Sealer 26 e Sealer 26 modificado, após instrumentação e obturação de canais de dentes de cães. Após o período de 180 dias os animais foram mortos e os tecidos envolvidos analisados microscopicamente. Os resultados evidenciaram que não houve diferença entre os cimentos, sendo ambos bem tolerados pelos tecidos periapicais de cães.

HOLLAND et al, em 2002⁴⁹, realizaram implantes de tubos de dentina contendo os cimentos Sealapex, MTA, CRCS, Sealer 26 e Sealer plus em tecido conjuntivo subcutâneo de rato. A análise foi realizada nos períodos de 7 e 30 dias. Constataram a presença de grânulos birrefringentes à luz polarizada com proliferação fibroblástica e uma reação inflamatória de leve a moderada, ao redor desses grânulos aos 7 dias, com exceção do grupo do CRCS. No período de 30 dias foi observado um tecido conjuntivo fibroso e a reação inflamatória crônica suave para todos os cimentos.

HUANG et al, também em 2002⁵¹, avaliaram a citotoxicidade dos cimentos endodônticos N2, Endométhasone, Canals, AH 26, AH Plus, Sealapex. Realizaram o teste em culturas de células do ligamento periodontal humano e células V79 de Hamster Chineses, nos períodos de 1, 2, 3 e 7 dias. Todos os cimentos foram tóxicos, sendo o N2 o mais agressivo seguido pelo, Endométhasone, AH 26, AH Plus, Canals e, por último, o Sealapex.

BERNÁTH; SZABÓ, em 2003¹⁸, avaliaram a reação tecidual provocada pelos cimentos: Apexit, Endométhasone, AH26 e cimento de Grossman após instrumentação e obturação de canais em dentes de macacos, considerando o período de 60 dias. Os autores concluíram que os

cimentos Apexit e o cimento de Grossman possuem uma boa compatibilidade tecidual, já o Endométhasone e o AH26 apresentaram uma reação inflamatória mediana, porém, quando os cimentos eram extravasados, mesmo os que apresentaram bons resultados, promoveram uma reação inflamatória mais significativa.

TANOMARU FILHO et al, em 2005¹⁰⁴, avaliaram o comportamento biológico após o implante intra-ósseo em tíbia de ratos dos materiais: Sealer 26 com consistência pesada, Sealapex com óxido de zinco, MTA. Foram utilizados 20 ratos, nos quais foram feitas cavidades, com broca, da região anterior de cada tíbia de cada pata posterior, e essas cavidades foram preenchidas com os materiais em teste. Após os períodos de 7, 15, 30 e 60 dias, os animais foram mortos e as tíbias analisadas microscopicamente. Foram avaliados os seguintes parâmetros: extensão de neo-formação óssea, infiltração inflamatória e deposição de fibras colágenas na região adjacente ao material. Os autores concluíram que todos os materiais testados apresentaram uma boa biocompatibilidade, promovendo uma deposição óssea após 30 e 60 dias, sem diferença estatisticamente significantes entre eles.

TANOMARU FILHO et al, em 2006¹⁰⁵, avaliaram a evolução do reparo periapical, em dentes de cães, com lesões induzidas, após retrobturação com os cimentos: Sealer 26 com consistência pesada, Sealapex com óxido de zinco, MTA. Para isso foram utilizadas 48 raízes de cães que tiveram lesões periapicais induzidas e, posteriormente, para serem retrobturados com os materiais em teste, os canais foram obturados. Após 180 dias, os animais foram mortos e a análise microscópica da região periapical foi realizada. Não houve diferença estatisticamente significativa, no reparo das lesões, quando comparados os diferentes materiais.

3- PROPOSIÇÃO:

3- Proposição:

O objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta inflamatória do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos, ao implantes de tubos de polietileno, contendo os cimentos de óxido de zinco e eugenol e Sealer 26, em consistência mais pesada (espessa), recobertos ou não com uma camada de dois diferentes tipos de própolis encontradas no Brasil.

4- MATERIAL E MÉTODO:

4- Material e Método:

4.1- Extração e preparo da própolis:

Foram investigadas duas amostras de tipagem de própolis, a saber: BRP1 (Figura 1) segundo a classificação mencionada anteriormente e a MAR (Figura 2).

Figura 1 – Própolis BRP – 1.

Figura 2 – Própolis MAR

A extração e o preparo dos extratos de própolis foram realizados da mesma maneira para as duas amostras.

A quantidade de sessenta gramas de própolis bruta (Figura 3) foi congelada e triturada (Figura 4) e depois misturada com 200mL de etanol PA. A mistura foi deixada em maceração, em temperatura ambiente por 20 dias.

Figura 3 – Própolis bruta

Figura 4 – Própolis bruta triturada

Decorrido esse tempo o extrato foi filtrado em papel de filtro Wathman nº 1 e o filtrado foi colocado em frasco âmbar e acondicionado em geladeira por 2 horas para a separação da cera, filtrando-o novamente para a remoção total da cera.

O extrato de própolis, após a retirada da cera, foi colocado em um balão de fundo redondo e rotaevaporado até quase a secura, sob pressão reduzida, a 70°C. Em seguida, o material foi colocado em um frasco aberto, na estufa a 60°C, até que todo o cheiro de álcool fosse eliminado. Finalmente, o frasco foi fechado e guardado para futuras aplicações. As amostras, assim preparadas, é que foram aplicadas sobre os cimentos.

4.2- Seleção e cirurgia dos animais:

Foram utilizados 39 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*) variação albina, pesando entre 210g e 330g, de 2 a 3 meses de idade, provenientes do biotério da FOB –USP, onde foram mantidos em condições normais. Os critérios estabelecidos para a execução deste estudo receberam a aprovação do Comitê de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais. (Apêndice 1).

Os animais foram submetidos à anestesia geral, administrando-se, intramuscularmente, uma dose de 10mg/Kg de cloridrato de Xilazina (Sedativo – Relaxante muscular – Analgésico) como pré-anestésico, e a seguir, a mesma dosagem para a anestesia profunda, propriamente dita, associada a 25mg/Kg de cloridrato de Ketamina. As doses de sedação e anestesia seguiram a tabela peso/dose preconizada pelo Biotério da FOB - USP. Para a administração da anestesia foi utilizada uma seringa de 1 mL.

A tricotomia, na região dorsal do animal, foi realizada manualmente (figuras 5 e 6) e, após, a área foi enxaguada com soro fisiológico para remoção final de pêlos aderidos. Realizou-se a anti-sepsia, esfregando-se, por 2 minutos, gaze embebida em álcool iodado a 5% (figura 7).

Figura 5- Realização da tricotomia manual na região dorsal do animal.

Figura 6- Região tricotomizada

Figura 7- Anti-sepsia com álcool iodado

A seguir, foram realizadas duas incisões longitudinais no dorso do animal, uma anterior e outra posterior (Figura 8 e 9) e, após a divulsão do tecido subcutâneo com uma tesoura reta de ponta romba (Figura 10), foram implantados três tubos de polietileno com 10mm de comprimento, 1,5mm de diâmetro interno e 2mm de diâmetro externo, contendo os materiais em teste, um de cada lado do animal, com uma distância de 5cm entre eles, na região anterior e um na região posterior (Figuras 11 e 12).

Figura 8 – Realização da incisão.

Figura 9 – Incisões realizadas nas regiões anterior e posterior.

Figura 10- Divulsão do tecido.

Figura 11 – Implantação do tubo na região incisada e divulsionada.

Figura 12 – Esquema da localização dos tubos de polietileno implantados no dorso do animal.

Inicialmente, antes da implantação, todos os tubos permaneceram por 1 hora em hipoclorito de sódio a 1%; após esse período eles foram lavados com soro fisiológico e secos com gase estéril.

Depois de desinfetados, 54 tubos foram preenchidos com o cimento de óxido de zinco e eugenol na proporção de 0,2mL de líquido para 0,6 g de pó.

Desses 54 tubos, 36 sofreram aplicação de própolis em suas extremidades, de maneira a recobrir toda a área do cimento e parte do tubo. Em 18 deles foi aplicada a própolis BRP1 (Figura 13) e nos restantes a própolis MAR (Figura 14). Os demais tubos não sofreram tratamento nas extremidades.

Figura 13 – Tubo de polietileno com a própolis BRP1 pincelada nas suas extremidades.

Figura 14- Tubo de polietileno com a própolis MAR pincelada nas suas extremidades.

Outros 54 tubos foram preenchidos com o cimento Sealer 26, na proporção pó-líquido de 0,24 g/0,048 ml e, identicamente aos anteriores, 36 deles tiveram as extremidades recobertas com própolis, sendo uma metade com a própolis BRP1 e a outra com a própolis MAR. Os outros 18 não receberam aplicação de própolis. Três ratos, um para cada período, foram utilizados como grupo controle. Cada animal desse grupo recebeu 4 tubos sendo 2 vazios e 2 preenchidos com guta-percha (Tanari – Manacapuru, Brasil).

Os períodos experimentais foram de 7, 30 e 60 dias, com 13 animais em cada período (12 experimentais e 1 controle). Cada animal dos grupos experimentais recebeu 3 tubos com os materiais e os dos grupos controle 4 tubos, conforme a tabela 2:

Tabela 2 – Distribuição dos animais em função dos períodos número de tubos implantados e dos materiais em teste.

Período	Animal	Número de implantes	Materiais
7 dias	animais 1-6	3 tubos cada	Sealer 26
			Sealer 26 / própolis BRP1
			Sealer 26 / própolis MAR
	animais 7-12	3 tubos cada	OZE
			OZE / própolis BRP1
			OZE / própolis MAR
	animal controle	4 tubos	2 vazios
			2 com guta-percha
30 dias	animais 1-6	3 tubos cada	Sealer 26
			Sealer 26 / própolis BRP1
			Sealer 26 / própolis MAR
	animais 7-12	3 tubos cada	OZE
			OZE / própolis BRP1
			OZE / própolis MAR
	animal controle	4 tubos	2 vazios
			2 com guta-percha

60 dias	animais 1-6	3 tubos cada	Sealer 26
			Sealer 26 / própolis BRP1
			Sealer 26 / própolis MAR
	animais 7-12	3 tubos cada	OZE
			OZE / própolis BRP1
			OZE / própolis MAR
	animal controle	4 tubos	2 vazios
			2 com guta-percha

Para maior facilidade de entendimento, nas futuras descrições, optou-se por chamar de cimento puro aquele, que não foi recoberto com as própolis, tanto o óxido de zinco e eugenol como o Sealer 26.

4.3- Coleta das peças:

Após os períodos pré-determinados, os animais foram mortos aplicando-se uma dose excessiva de anestésico (cloridrato de Ketamina) injetado via intraperitoneal.

Todos os procedimentos histológicos foram realizados no Departamento de Ciências Biológicas, disciplina de Histologia da Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo.

As peças contendo os implantes foram removidas e fixadas em solução de Bouin por 4 horas. Passado esse período foram lavadas em álcool 70% e os tubos implantados foram removidos cuidadosamente. As peças foram desidratadas em álcoois de concentrações crescentes (álcool 70%, 80%, 90% e absoluto), diafanizadas com xilol e incluídas em parafina para obtenção dos blocos e realização de cortes semi-seriados de 5 µm de espessura. Os cortes foram corados pela hemotoxilina e eosina (HE) e pelo Tricrômico de Masson.

4.4- Análise microscópica:

De cada fragmento removido foram obtidos 16 cortes semi-seriados com 5µm de espessura. Em cada lâmina foram montados 4 cortes, totalizando, 4 lâminas por tubo. Foi sorteado um corte de cada lâmina para leitura microscópica e, neste corte, foram feitos os exames de toda extensão de ambas as extremidades.

Foi realizada uma análise descritiva de todas as lâminas de todos os espécimes. Esta análise foi realizada examinando-se as estruturas mais significativas e possíveis de estarem presentes no tecido conjuntivo periférico às extremidades dos tubos: macrófagos, células gigantes, fibroblastos, fibras colágenas, vasos sanguíneos, e linfócitos. À quantidade presente dessas estruturas foram atribuídos escores com os seguintes valores:

0= ausente. Quando não se encontrava a estrutura no tecido

1= leve

2= moderado

3= intenso

A figura 15 representa uma situação onde foi considerado: intensa presença de células gigantes, moderada quantidade de macrófagos e discreta presença de linfócitos.

Figura 15

A figura 16 representa uma situação onde foi considerado: intensa presença de fibroblastos e moderada quantidade de fibras colágenas e com discreta quantidade de vasos sanguíneos.

Figura 16

A figura 17 representa uma situação onde foi considerado: discreta quantidade de fibras colágenas e de células gigantes, moderada quantidade de fibroblastos.

Figura 17

A figura 18 representa uma situação onde foi considerado: moderada quantidade de células gigantes, intensa quantidade de macrófagos.

Figura 18

A figura 19 representa uma situação onde foi considerado: intensa quantidade de fibras colágenas, discreta quantidade de fibroblastos e macrófagos, moderada presença de vasos sanguíneos.

Figura 19

4.5- Análise estatística dos dados histológicos:

Para a comparação entre os cimentos puros, com própolis BRP-1 ou com própolis MAR, em cada período experimental, foi utilizado o Teste de Friedman. Quando foram observadas diferenças estatísticas significantes entre os resultados, de cada grupo, foi realizado o teste de Dunn para as comparações individuais. Para as comparações entre os cimentos em diferentes situações, nos períodos de 7, 30 e 60 dias foi utilizado o teste de Mann-Whitney.

5- RESULTADOS:

5- Resultados

As figuras 20 a 58 representam espécimes analisados microscopicamente e referentes aos cimentos Sealer 26 e óxido de zinco e eugenol sem e com a cobertura da própolis BRP1 e MAR.

Nas tabelas 3 a 8 estão distribuído os escores atribuídos aos eventos histo-patológicos em função do cimento e da própolis utilizados.

Nas figuras de 59 a 64 estão a representação desses eventos em forma de gráfico.

Nas tabelas 9 a 11 estão as comparações dos dois cimentos com e sem as própolis BRP-1 e MAR.

Nos anexos 1 a 24 estão as distribuições dos escores dos eventos microscópicos em cada espécime em função dos cimentos e das própolis utilizadas.

5.1- Análise descritiva:

Sealer 26 puro – 7 dias

- Com extravasamento:

Pode ser observada uma delgada cápsula fibrosa de tecido conjuntivo permeando o material extravasado, com muitas células gigantes, moderada quantidade de macrófagos e discreta presença de linfócitos (Figura 20A). Circundando o material podem-se observar muitos fibroblastos, moderada quantidade de fibras colágenas e discreta quantidade de vasos sanguíneos, dando a característica de um tecido conjuntivo menos fibroso (Figura 20B).

Figura 20 – Sealer 26 puro com extravasamento (7 dias). **A:** Observar delgada cápsula fibrosa de tecido conjuntivo permeando o material extravasado, com muitas células gigantes (seta), moderada quantidade e alguns macrófagos (*) H.E. (400X) – **B-** Circundando o material pode-se observar muitos fibroblastos (seta), moderada quantidade de fibras colágenas e discreta quantidade de vasos sanguíneos (*). H.E. (400X).

- Sem extravasamento:

Foi observada cápsula fina, com intensa quantidade de fibroblasto, moderada quantidade de fibras colágenas, discreta presença de vasos sanguíneos, discreta quantidade de macrófagos e linfócitos e não se observou células gigantes (Figura 21).

Figura 21-: Sealer 26 puro sem extravasamento. 7 dias. Observar uma cápsula fina com poucos vasos sanguíneos (seta vermelha), muitos fibroblastos (seta verde). HE. (400X).

Sealer 26 / BRP1 – 7 dias

- Com extravasamento:

Foi observada cápsula delgada, com discreta quantidade de fibras colágenas, vasos sanguíneos, células gigantes e linfócitos, moderada quantidade de macrófagos e intensa quantidade de fibroblastos. Observou-se ainda um coágulo sangüíneo. (Figuras 22A e B)

Figura 22: A (HE) e B (Tricrômico de Masson) – Sealer 26 / BRP1 com extravasamento. 7 dias. Observar uma cápsula delgada, desorganizada, com discreta quantidade de fibras colágenas, célula gigante (*) e vasos sanguíneos (▲), grande quantidade de fibroblastos (seta azul), moderada quantidade de macrófago (seta rosa) e ainda a presença do coágulo (■). Coloração: HE. (400)X.

- Sem extravasamento:

Foi observada cápsula extremamente fina, discreta quantidade de vasos sanguíneos, moderada quantidade de fibras colágenas e de fibroblastos. Os macrófagos e linfócitos apareceram de forma discreta e as células gigantes estavam ausentes (Figura 23).

Figura 23 – Sealer 26 / BRP1 sem extravasamento. 7 dias. Observar uma cápsula extremamente delgada com moderada quantidade de fibras colágenas e fibroblastos (seta azul) e de poucos vasos sanguíneos (seta). HE. (400)X.

Sealer 26 / MAR – 7 dias

- Com extravasamento:

Foi observada delgada cápsula fibrosa com moderada quantidade de fibras colágenas, vasos sanguíneos, fibroblastos, e macrófagos, discreta presença de linfócitos e ausência de células gigantes (Figura 24).

Figura 24- Sealer 26 / MAR com extravasamento. 7 dias. Observar uma cápsula delgada com moderada quantidade de fibras colágenas, vasos sanguíneos (seta verde) e fibroblastos (seta azul). HE. (400X).

- Sem extravasamento:

Foi observada cápsula fibrosa fina com intensa quantidade de fibras colágenas e discreta de vasos sanguíneos e quantidade moderada de macrófagos e de fibroblastos, poucos linfócitos e ausência de células gigantes (Figura 25).

Figura 25- Sealer 26 / MAR sem extravasamento. 7 dias. Observar uma cápsula fibrosa fina com intensa quantidade de fibras colágenas e moderada de macrófagos (seta verde) e de fibroblastos (seta azul). HE. (400)X.

OZE puro – 7 dias

Neste grupo não se observou material extravasado para fora do tubo e a cápsula fibrosa apresentou-se espessa com moderada quantidade de fibras colágenas e vasos sanguíneos. Foi observada também quantidade intensa de fibroblastos, moderada de macrófagos, discreta de linfócitos e ausência de células gigantes. (Figura 26).

Figura 26- OZE puro sem extravasamento. 7 dias. Observar cápsula fibrosa espessa com moderada quantidade de fibras colágenas e vasos sanguíneos (seta verde), intensa quantidade de fibroblastos (seta amarela), moderada de macrófagos (seta azul). HE. (400)X.

OZE / BRP1 – 7 dias

- Com extravasamento:

Foi observada cápsula fibrosa constituída por discreta quantidade de fibras colágenas e vasos sanguíneos e discreta de células gigantes com material no seu interior, moderada quantidade de macrófagos, fibroblastos e, ainda, discreta quantidade de linfócitos (Figura 27).

Figura 27- OZE / BRP1 com extravasamento. 7 dias. Observar cápsula fibrosa constituída por discreta quantidade de fibras colágenas e vasos sanguíneos (seta verde) e discreta de células gigantes com material no seu interior (*) e moderada quantidade de macrófagos (seta azul) e fibroblastos (seta amarela). HE. (400)X.

- Sem extravasamento:

Foi observada cápsula fibrosa delgada com presença intensa de fibras colágenas e moderada quantidade de vasos sanguíneos, fibroblastos (Figura 28) e discreta quantidade de macrófagos sendo que linfócitos foram observados discretamente em apenas um espécime.

Figura 28- OZE / BRP1 sem extravasamento. 7 dias. Observar cápsula fibrosa delgada com presença intensa de fibras colágenas e moderada quantidade de vasos sanguíneos (seta vermelha), fibroblastos (seta azul). Tricrômico de Masson. (400)X.

OZE / MAR – 7 dias

- Com extravasamento:

Foi observada cápsula fibrosa delgada com moderada quantidade de fibras colágenas e discreta quantidade de macrófagos, vasos sanguíneos, linfócitos, células gigantes e fibroblastos (Figura 29).

Figura 29- OZE / MAR com extravasamento. 7 dias. Observada cápsula fibrosa delgada com discreta quantidade macrófagos (seta azul), vasos sanguíneos (seta verde), células gigantes (*) e fibroblastos (seta amarela). HE. (400X).

- Sem extravasamento:

Foi observada cápsula fibrosa delgada com moderada quantidade de fibras colágenas e discreta presença de vasos sanguíneos. Foi observada, ainda, moderada quantidade de fibroblastos, discreta quantidade de macrófagos, ausência de células gigantes (Figura 30) e presença discreta de linfócitos em apenas um espécime.

Figura 30- OZE / MAR sem extravasamento. 7 dias. Observar cápsula fibrosa delgada com moderada quantidade de fibras colágenas e discreta presença de vasos sanguíneos (seta verde), moderada quantidade de fibroblastos (seta azul). HE. (400X).

Controle vazio – 7 dias

Foi observada cápsula fibrosa fina, com moderada quantidade de fibras colágenas e vasos sanguíneos, e com grande quantidade de fibroblastos. (Figura 31).

Figura 31- Controle – vazio. 7 dias. Observar cápsula fibrosa fina, com moderada quantidade de fibras colágenas e vasos sanguíneos (seta rosa) e com grande quantidade de fibroblastos (seta vermelha). Tricrômico de Masson. (400X).

Controle guta - percha – 7 dias

Foi observada cápsula fibrosa espessa com moderada quantidade de fibras colágenas, poucos vasos sanguíneos e discreta quantidade de macrófagos e linfócitos (Figura 32).

Figura 32- Controle – guta-percha. 7 dias. Observar cápsula fibrosa espessa com moderada quantidade de fibras colágenas, poucos vasos sanguíneos (seta verde) e discreta quantidade de macrófagos (seta azul). HE. (400X).

Sealer 26 puro – 30 dias

- Com extravasamento:

Foi observada uma cápsula fibrosa, permeando o material extravasado (Figura 33A), formada por intensa quantidade de fibras colágenas e moderada presença de vasos sanguíneos (Figura 33B). Pode-se observar ainda quantidade moderada de células gigantes, em íntimo contato com o material extravasado (Figura 33A), intensa quantidade de macrófagos, inclusive, alguns desses apresentavam material no seu interior, e, também, de fibroblastos e discreta de linfócitos (Figura 33B).

Figura 33 - Sealer 26 puro com extravasamento. 30 dias. **A-** Observar uma cápsula fibrosa, permeando o material extravasado (Figura 33A), formada por intensa quantidade de fibras colágenas e quantidade moderada de células gigantes, em íntimo contato com o material extravasado (*). **B-** Observar moderada presença de vasos sanguíneos (seta azul) e intensa quantidade de macrófagos e fibroblastos (seta vermelha). HE. (400X).

- Sem extravasamento:

Foi observada uma cápsula fibrosa espessa formada por intensa quantidade de fibras colágenas e moderada presença de vasos sanguíneos (Figura 34A). Pode-se observar muitos fibroblastos (Figura 34A e B), discreta quantidade de macrófagos e linfócitos em apenas um espécime, além da ausência de células gigantes (Figura 34B).

Figura 34 – Sealer 26 puro sem extravasamento. 30 dias. **A-** Observar cápsula fibrosa espessa formada por intensa quantidade de fibras colágenas e moderada presença de vasos sanguíneos (seta rosa) e muitos fibroblastos (seta amarela). Tricrômico de Masson. (400x). **B-** Observar intensa quantidade de fibras colágenas e fibroblastos (seta azul) e discreta quantidade de macrófagos (seta verde). HE. (400X).

Sealer 26 / BRP1 – 30 dias

- Com extravasamento:

Foi observada uma cápsula fibrosa formada por intensa quantidade de fibras colágenas, moderada presença de vasos sanguíneos. Pode-se observar, ainda, quantidade moderada de macrófagos, fibroblastos e células gigantes, as quais possuem material no seu interior, e ausência de linfócitos (Figura 35).

Figura 35- Sealer 26 / BRP1 com extravasamento. 30 dias. Observar cápsula fibrosa formada por intensa quantidade de fibras colágenas, quantidade moderada de macrófagos (seta verde), fibroblastos (seta azul) e células gigantes, as quais possuem material no seu interior (*). HE. (400X).

- Sem extravasamento:

Foi observada uma espessa cápsula fibrosa formada por uma intensa quantidade de fibras colágenas e de fibroblastos, discreta quantidade de vasos sanguíneos e de macrófagos e células gigantes e linfócitos (Figura 36).

Figura 36- Sealer 26 / BRP1 sem extravasamento. 30 dias. Observar uma espessa cápsula fibrosa formada por uma intensa quantidade de fibras colágenas e de fibroblastos (seta vermelha), discreta quantidade de vasos sanguíneos (seta verde) e de macrófagos (seta azul). HE. (400X).

Sealer 26 / MAR – 30 dias

- Com extravasamento:

Foi observada uma cápsula fibrosa espessa formada por moderada quantidade de fibras colágenas e vasos sanguíneos (Figura 37A). Nota-se uma presença discreta de células gigantes (Figura 37B), moderada de macrófagos (Figura 37A), intensa de fibroblastos (Figura 37A e B) e ausência de linfócitos.

Figura 37 – Sealer 26 / MAR com extravasamento. 30 dias. **A-** Observar uma cápsula fibrosa espessa formada por moderada quantidade de fibras colágenas e vasos sanguíneos (seta verde), macrófagos (seta vermelha) e intensa quantidade de fibroblastos (seta azul). **B-** Observar presença discreta de células gigantes (*) e intensa de fibroblastos (seta azul). HE. (400X).

- Sem extravasamento:

Foi observada uma cápsula fibrosa de espessura mediana formada por intensa quantidade de fibras colágenas e fibroblastos, poucos vasos sanguíneos e macrófagos e ausência de células gigantes e linfócitos (Figura 38).

Figura 38- Sealer 26 / MAR sem extravasamento. 30 dias. Observar cápsula fibrosa de espessura mediana formada por intensa quantidade de fibras colágenas e fibroblastos, poucos vasos. Tricrômico de Masson. (400X).

OZE puro – 30 dias

Neste grupo não se observou material extravasado para fora do tubo e a cápsula fibrosa apresentou-se espessa com intensa quantidade de fibras colágenas, discreta presença de vasos sanguíneos, macrófagos e células gigantes que se fizeram presentes em apenas um espécime, além de moderada quantidade de fibroblastos e ausência de linfócitos (Figura 39).

Figura 39- OZE puro sem extravasamento. 30 dias. Observar cápsula fibrosa espessa com intensa quantidade de fibras colágenas, discreta presença de vasos sanguíneos (seta azul) e moderada quantidade de fibroblastos (seta verde). HE. (400X).

OZE /BRP1 – 30 dias

- Com extravasamento:

Foi observada uma cápsula fibrosa delgada formada por intensa quantidade de fibras colágenas e fibroblastos, moderada presença de vasos sanguíneos e macrófagos, discreta quantidade de células gigantes e ausência de linfócitos (Figura 40).

Figura 40- OZE / BRP1 com extravasamento. 30 dias. Observar cápsula fibrosa delgada formada por intensa quantidade de fibras colágenas e fibroblastos (seta verde), moderada presença de macrófagos (seta azul). HE. (400X).

- Sem extravasamento:

Pôde-se observar uma cápsula fibrosa delgada formada por intensa quantidade de fibras colágenas e fibroblastos, moderada presença de vasos sanguíneos e macrófagos e ausência de linfócitos e células gigantes (Figura 41).

Figura 41- OZE / BRP1 sem extravasamento. 30 dias. Observar uma cápsula fibrosa delgada formada por intensa quantidade de fibras colágenas e fibroblastos (seta azul), moderada presença de vasos sanguíneos (seta verde). HE. (400X).

OZE / MAR – 30 dias

- Com extravasamento:

Observou-se uma cápsula fibrosa permeando o material extravasado, com moderada quantidade de fibras colágenas e escassos vasos sanguíneos. Presença discreta de células gigantes, intensa quantidade de fibroblastos e macrófagos e discreta de linfócitos (Figura 42).

Figura 42- OZE / MAR com extravasamento. 30 dias. Observar uma cápsula fibrosa permeando o material extravasado, com moderada quantidade de fibras colágenas e escassos vasos sanguíneos (seta verde), presença discreta de células gigantes (*), intensa quantidade de fibroblastos (seta vermelha) e macrófagos (seta azul). HE. (400X).

- Sem extravasamento:

Observou-se uma cápsula fibrosa formada por intensa quantidade de fibras colágenas e fibroblastos, e moderada presença de vasos sanguíneos. Pouca quantidade de macrófagos e ausência de células gigantes e linfócitos. (Figura 43).

Figura 43- OZE / MAR sem extravasamento. 30 dias. Observar uma cápsula fibrosa formada por intensa quantidade de fibras colágenas e fibroblastos (seta vermelha), moderada presença de vasos sanguíneos (seta verde), e pouca quantidade de macrófagos (seta azul). HE. (400X).

Controle vazio – 30 dias

Pôde-se observar uma cápsula fibrosa espessa com intensa quantidade de fibras colágenas, discreta quantidade de fibroblastos, de vasos sanguíneos e de macrófagos, principalmente, na área onde houve uma pequena invaginação, ausência de linfócitos e células gigantes (Figura 44).

Figura 44- Controle – vazio. 30 dias. Observar uma cápsula fibrosa espessa com intensa quantidade de fibras colágenas, discreta quantidade de fibroblastos (seta verde), de vasos sanguíneos (seta azul) e de macrófagos (seta preta). HE. (400X).

Controle guta - percha – 30 dias

Foi observada uma cápsula fibrosa constituída por quantidade moderada de fibras colágenas, vasos sanguíneos e macrófagos. Grande quantidade de fibroblastos e ausência de células gigantes e linfócitos (Figura 45).

Figura 45- Controle – guta-percha. 30 dias. Observar uma cápsula fibrosa constituída por quantidade moderada de fibras colágenas, vasos sanguíneos (seta azul) e macrófagos (seta verde), grande quantidade de fibroblastos (seta vermelha). HE. (400X).

Sealer 26 puro – 60 dias

- Com extravasamento:

Foi observada uma cápsula fibrosa permeando todo o material (Figura 46A e B), constituída por intensa quantidade de fibras colágenas e fibroblastos (Figura 46A e B), moderada presença de vasos sanguíneos (Figura 46A e B), macrófagos e células gigantes (Figura 46 A e B) e ausência de linfócitos.

Figura 46- A (HE) – B (Tricrômico de Masson): Sealer 26 puro com extravasamento. 60 dias. Observar uma cápsula fibrosa permeando todo o material (▲), constituída por intensa quantidade de fibras colágenas e fibroblastos (seta vermelha), moderada presença de vasos sanguíneos (*) e células gigantes (seta azul). (400X).

- Sem extravasamento:

Foi observada uma cápsula fibrosa espessa formada por intensa quantidade de fibras colágenas e discreta presença de vasos sanguíneos. Nessa cápsula fibrosa, também, é possível observar uma quantidade discreta de macrófagos e moderada de fibroblastos, além da ausência de linfócitos e células gigantes. (Figura 47).

Figura 47- Sealer 26 puro sem extravasamento. 60 dias. Observar uma cápsula fibrosa espessa formada por intensa quantidade de fibras colágenas e discreta presença de vasos sanguíneos (seta rosa) e moderada quantidade de fibroblastos (seta amarela). Tricrômico de Masson. (400X).

Sealer 26 / BRP1 – 60 dias

- Com extravasamento:

Foi observada uma cápsula fibrosa com moderada quantidade de fibras colágenas, fibroblastos e células gigantes, poucos vasos sanguíneos, intensa quantidade de macrófagos e ausência de linfócitos. (Figura 48).

Figura 48- Sealer 26 / BRP1 com extravasamento. 60 dias. Observar uma cápsula fibrosa com moderada quantidade de fibras colágenas, fibroblastos (seta amarela) e células gigantes (*), poucos vasos sanguíneos (seta rosa), intensa quantidade de macrófagos (seta azul). Tricrômico de Masson. (400X).

- Sem extravasamento:

Foi possível observar cápsula fibrosa espessa formada por moderada quantidade de fibras colágenas, fibroblastos e de macrófagos, poucos vasos sanguíneos e de e ausência de linfócitos. (Figura 49).

Figura 49- Sealer 26 / BRP1 sem extravasamento. 60 dias. Observar cápsula fibrosa espessa formada por moderada quantidade de fibras colágenas, fibroblastos (seta vermelha) e de macrófagos (seta verde), poucos vasos sanguíneos (seta azul). HE. (400X).

Sealer 26 / MAR – 60 dias

- Com extravasamento:

Foi observada uma cápsula fibrosa fina com moderada quantidade de fibras colágenas, vasos sanguíneos e macrófagos, presença intensa de fibroblastos e discreta de linfócitos e células gigantes. (Figura 50).

Figura 50- Sealer 26 / MAR com extravasamento. 60 dias. Observar cápsula fibrosa fina com moderada quantidade de fibras colágenas, vasos sanguíneos (seta verde) e macrófagos (seta azul), presença intensa de fibroblastos (seta vermelha). HE. (400X).

- Sem extravasamento:

Pôde-se observar uma cápsula fibrosa espessa com intensa quantidade de fibras colágenas, moderada presença de vasos sanguíneos e fibroblastos, quantidade discreta de macrófagos e ausência de linfócitos. Com relação às células gigantes, essas apareceram de maneira discreta em apenas um espécime. (Figura 51).

Figura 51- Sealer 26 / MAR sem extravasamento. 60 dias. Observar uma cápsula fibrosa espessa com intensa quantidade de fibras colágenas, moderada presença de vasos sanguíneos (seta verde) e fibroblastos (seta azul), quantidade discreta de macrófagos (seta vermelha). HE. (400X).

OZE puro – 60 dias

Neste grupo não se observou material extravasado do tubo e a cápsula fibrosa apresentou uma grande quantidade de fibras colágenas, moderada presença de vasos sanguíneos, fibroblastos, discreta quantidade de macrófagos e ausência de células gigantes e linfócitos. (Figura 52).

Figura 52- OZE puro sem extravasamento. 60 dias. Observar cápsula fibrosa com quantidade de fibras colágenas, moderada presença de vasos sanguíneos (seta verde), fibroblastos (seta azul). HE. (400X).

OZE / BRP1 – 60 dias

- Com extravasamento:

Observou-se uma cápsula fibrosa espessa com quantidade moderada de fibras colágenas, vasos sanguíneos, macrófagos e células gigantes, presença intensa de fibroblastos e ausência de linfócitos. (figura 53).

Figura 53- OZE / BRP1 com extravasamento. 60 dias. Observar uma cápsula fibrosa espessa com quantidade moderada de fibras colágenas e células gigantes com material no seu interior (▲). HE. (400X).

- Sem extravasamento:

Cápsula fibrosa espessa com intensa quantidade de fibras colágenas e discreta presença de vasos sanguíneos e de macrófago, pôde-se observar também uma quantidade moderada de fibroblastos e ausência de células gigantes e linfócitos. (Figura 54)

Figura 54- OZE / BRP1 sem extravasamento. 60 dias. Observar cápsula fibrosa espessa com intensa quantidade de fibras colágenas e discreta presença de vasos sanguíneos (seta verde) e quantidade moderada de fibroblastos (seta vermelha). HE. (400X).

OZE / MAR – 60 dias

- Com extravasamento:

Foi possível observar uma cápsula fibrosa espessa com moderada quantidade de fibras colágenas e vasos sanguíneos, presença intensa de macrófagos e fibroblastos, discreta presença de células gigantes e ausência de linfócitos. (Figura 55)

Figura 55- OZE / MAR com extravasamento. 60 dias. Observar uma cápsula fibrosa espessa com moderada quantidade de fibras colágenas, presença intensa de macrófagos (seta verde) e fibroblastos (seta vermelha), discreta presença de células gigantes (*). HE. (400X).

- Sem extravasamento:

Observou-se uma cápsula fibrosa espessa formada por uma grande quantidade de fibras colágenas, presença moderada de vasos sanguíneos, macrófagos e fibroblastos, além da ausência de células gigantes e linfócitos. (Figura 56).

Figura 56- OZE / MAR sem extravasamento. 60 dias. Observar uma cápsula fibrosa espessa formada por uma grande quantidade de fibras colágenas, presença moderada de vasos sanguíneos (seta verde) e fibroblastos (seta azul). HE. (400X).

Controle vazio – 60 dias

Pôde-se observar uma cápsula fibrosa espessa com intensa quantidade de fibras colágenas e fibroblastos, moderada presença de macrófagos e vasos sanguíneos e ausência de células gigantes e linfócitos. (Figura 57).

Figura 57- Controle – vazio. 60 dias. Observar uma cápsula fibrosa espessa com intensa quantidade de fibras colágenas e fibroblastos (seta azul), moderada presença de macrófagos (seta verde) e vasos sanguíneos (seta vermelha). HE. (400X).

Controle guta - percha – 60 dias

Foi possível observar uma cápsula fibrosa fina com moderada quantidade de fibras colágenas, de vasos sanguíneos, macrófagos e fibroblastos e ausência de células gigantes e linfócitos. (Figura 58)

Figura 58- Controle – guta-percha. 60 dias. Observar uma cápsula fibrosa fina com moderada quantidade de fibras colágenas, de vasos sanguíneos (seta verde), macrófagos (seta azul) e fibroblastos (seta vermelha). HE. (400X).

5.2- Análise estatística:

Para a comparação entre os cimentos puros, com própolis verde (BRP1) e com própolis vermelha (MAR) em cada período experimental foi utilizado o Teste de Friedman. Quando foram observadas diferenças estatísticas significantes entre eles foi realizado o teste de Dunn para as comparações individuais.

Na tabela 3 e na Figura 59 estão dispostas as médias (m) e os desvios padrão (DP) dos escores atribuídos ao número de macrófagos para cada material testado nos diferentes períodos:

Tabela 3: Médias (m) e os desvios padrão (DP) dos escores atribuídos ao número de macrófagos para cada material nos períodos de 7, 30 e 60 dias. a,b, c: diferença estatística.

Período	Sealer		Sealer/ BRP1		Sealer/ MAR		OZE		OZE/ BRP1		OZE/ MAR	
	m	DP	m	DP	m	DP	m	DP	m	DP	m	DP
7 dias	1,50	0,54	1,60	0,81	2,00	0,63	2,16 ^a	0,4	1,80	0,75	1,33 ^a	0,51
30 dias	2,00	2	1,80	0,75	1,66	0,81	1,16 ^b	1,16	2,30 ^c	0,51	1,50 ^{bc}	0,83
60 dias	1,60	1,66	2,16	0,98	1,50	0,54	1,16	1,16	1,50	0,83	2,16	0,98

Figura 59 - Gráfico das médias dos escores atribuídos ao número de macrófagos para cada material nos períodos de 7, 30 e 60 dias.

Na tabela 4 e na Figura 60 estão dispostas as médias (m) e os desvios padrão (DP) dos escores atribuídos ao número de células gigantes para cada material testado nos diferentes períodos:

Tabela 4: Médias (m) e os desvios padrão (DP) dos escores atribuídos ao número de células gigantes para cada material nos períodos de 7, 30 e 60 dias.

Período	Sealer		Sealer/ BRP1		Sealer/ MAR		OZE		OZE/ BRP1		OZE/ MAR	
	m	DP	m	DP	M	DP	m	DP	m	DP	M	DP
7 dias	0,50	1,22	0,66	0,66	0,00	0	0,00	0	0,33	0,33	0,16	0,4
30 dias	0,83	1,32	1,00	1	0,66	0,81	0,16	0,4	0,5	0,5	0,16	0,4
60 dias	0,66	1,03	0,83	0,83	0,50	0,57	0,00	0	0,83	0,83	0,16	0,4

Figura 60 – Gráfico das médias dos escores atribuídos ao número de células gigantes para cada material nos períodos de 7, 30 e 60 dias.

Na tabela 5 e na Figura 61 estão dispostas as médias (m) e os desvios padrão (DP) dos escores atribuídos ao número de fibroblastos para cada material testado nos diferentes períodos:

Tabela 5: Médias (m) e os desvios padrão (DP) dos escores atribuídos ao número de fibroblastos para cada material nos períodos de 7, 30 e 60 dias. a,b, c: diferença estatística. a,b, c: diferença estatística.

Período	Sealer		Sealer/ BRP1		Sealer /MAR		OZE		OZE/ BRP1		OZE/ MAR	
	m	DP	m	DP	m	DP	m	DP	m	DP	m	DP
7 dias	2,83 ^a	0,4	2,50	0,54	1,83 ^a	0,4	3,00 ^b	0	2,33	0,51	2,00 ^b	0,63
30 dias	3,00	0	2,50	0,54	2,83	0,4	2,16 ^c	0,4	3,00 ^c	0	2,66	0,51
60 dias	2,50	0,54	2,33	0,51	2,50	0,54	2,16	0,4	2,33	0,51	2,50	0,54

Figura 61- Gráfico das médias dos escores atribuídos ao número de fibroblastos para cada material nos períodos de 7, 30 e 60 dias.

Na tabela 6 e na Figura 62 estão dispostas as médias (m) e os desvios padrão (DP) dos escores atribuídos ao número de fibras colágenas para cada material testado nos diferentes períodos:

Tabela 6: Médias (m) e os desvios padrão (DP) dos escores atribuídos ao número de fibras colágenas para cada material, nos períodos de 7, 30 e 60 dias. a: diferença estatística.

Período	Sealer		Sealer/ BRP1		Sealer/ MAR		OZE		OZE/ BRP1		OZE/ MAR	
	m	DP	m	DP	m	DP	m	DP	m	DP	m	DP
7 dias	2,00	0,63	1,83	0,75	2,16	0,75	2,50	0,54	2,50	0,83	2,50	0,54
30 dias	2,83	0,4	2,83	0,4	2,66	0,51	2,83	0,4	2,66	0,51	2,50	0,54
60 dias	3,00 ^a	0	2,16 ^a	0,4	2,66	0,51	2,83	0,4	2,66	0,51	2,50	0,54

Figura 62- Gráfico das médias dos escores atribuídos ao número de fibras colágenas para cada material nos períodos de 7, 30 e 60 dias.

Na tabela 7 e no Figura 63 estão dispostas as médias (m) e os desvios padrão (DP) dos escores atribuídos ao número de vasos sanguíneos para cada material testado nos diferentes períodos:

Tabela 7: Médias (m) e os desvios padrão (DP) dos escores atribuídos ao número de vasos sanguíneos para cada material nos períodos de 7, 30 e 60 dias.

Período	Sealer		Sealer/ BRP1		Sealer/ MAR		OZE		OZE/ BRP1		OZE/ MAR	
	m	DP	m	DP	m	DP	m	DP	m	DP	M	DP
7 dias	1,33	0,51	1,00	0,51	1,33	0,51	1,83	0,4	1,66	0,51	1,16	0,4
30 dias	1,66	0,51	1,33	0,75	1,50	0,54	1,16	0,4	1,83	0,51	1,50	0,54
60 dias	1,33	0,81	1,33	0,51	1,83	0,4	1,83	0,85	1,50	0,83	1,83	0,75

Figura 63 – Gráfico das médias dos escores atribuídos ao número de vasos sanguíneos para cada material nos períodos de 7, 30 e 60 dias.

Na tabela 8 e na Figura 64 estão dispostas as médias (m) e os desvios padrão (DP) dos escores atribuídos ao número de linfócitos para cada material testado nos diferentes períodos:

Tabela 8: Médias (m) e os desvios padrão (DP) dos escores atribuídos ao número de linfócitos para cada material nos tempos de 7, 30 e 60 dias. a: diferença estatística.

Período	Sealer		Sealer/ BRP1		Sealer/ MAR		OZE		OZE/ BRP1		OZE/ MAR	
	m	DP	m	DP	M	DP	m	DP	m	DP	m	DP
7 dias	0,50	0,54	0,50	0,54	0,50	0,54	1,16	0,4	0,50	0,54	0,33	0,51
30 dias	0,66 ^a	0,51	0,00 ^a	0	0,00 ^a	0	0,00	0	0,00	0	0,16	0,4
60 dias	0,00	0	0,00	0	0,16	0,4	0,16	0,4	0,00	0	0,00	0

Figura 64 – Gráfico das médias dos escores atribuídos ao número de linfócitos para cada material nos períodos de 7, 30 e 60 dias.

Nas tabelas 9, 10 e 11 estão dispostos os resultados das comparações entre os cimentos em diferentes situações, nos períodos de 7, 30 e 60 dias, respectivamente. Para essa comparação foi utilizado o teste de Mann-Whitney.

Tabela 9

Tabela 9: Médias dos escores atribuídos aos números de estruturas histológicas para cada cimento/situação no período de 7 dias. a,b, c: diferença estatística.

Situação	Cimento	Estrutura					
		macrófago	Célula gigante	fibroblasto	Fibra colágena	Vaso sanguíneo	linfócito
Puro	Sealer 26	1,500 ^a	0,500	2,830	2,000	1,330	0,500 ^c
	OZE	2,166 ^a	0,000	3,000	2,500	1,830	1,160 ^c
BRP1	Sealer 26	1,660	0,660	2,500	1,830	1,000 ^b	0,500
	OZE	1,830	0,330	2,330	2,500	1,660 ^b	0,500
MAR	Sealer 26	2,000	0,000	1,830	2,160	1,330	0,500
	OZE	1,330	0,166	2,000	2,500	1,160	0,330

Tabela 10

Tabela 10: Médias dos escores atribuídos aos números de estruturas histológicas para cada cimento/situação no período de 30 dias. a,b, c: diferença estatística.

Situação	Cimento	Estrutura					
		macrófago	Célula gigante	fibroblastos	Fibras colágenas	Vaso sanguíneo	linfócitos
Puro	Sealer 26	2,00	0,83	3,00 ^a	2,83	1,66	0,66 ^b
	OZE	1,16	0,16	2,16 ^a	2,83	1,16	0,00 ^b
BRP1	Sealer 26	1,83	1,00	2,50	2,83	1,33	0,00
	OZE	2,33	0,50	3,00	2,66	1,83	0,00
MAR	Sealer 26	1,66	0,66	2,83	2,66	1,50	0,00
	OZE	1,50	0,16	2,66	2,50	1,50	0,16

Tabela 11

Tabela 11: Médias dos escores atribuídos aos números de estruturas histológicas para cada cimento/situação no período de 60 dias.

Situação	Cimento	Estrutura					
		macrófago	célula gigante	fibroblastos	Fibras colágenas	Vaso sanguíneo	linfócitos
Puro	Sealer 26	1,66	0,66	2,50	3,00	1,33	0,00
	OZE	1,66	0,00	2,16	2,83	1,83	0,16
BRP1	Sealer 26	2,16	0,83	2,33	2,16	1,33	0,00
	OZE	1,50	0,83	2,33	2,66	1,50	0,00
MAR	Sealer 26	1,50	0,50	2,50	2,66	1,83	0,16
	OZE	2,16	0,16	2,50	2,50	1,83	0,00

Quando não houve diferença estatística entre os dois cimentos, independentemente da situação, foi feita uma análise do período não levando em consideração o cimento utilizado, realizando-se o teste de Kruskal-Wallis e, quando havia diferença estatística, foi utilizado o teste de Dunn.

6- DISCUSSÃO:

6- Discussão:

6.1- Discussão da metodologia:

A realização de testes de biocompatibilidade com todos os materiais e/ou medicamentos antes de serem utilizados nos seres humanos, além de ser de extrema necessidade para que os mesmos não venham a causar nenhum malefício ao usuário, é uma condição ética que deve sempre ser levada em conta. Stanley, em 1992¹⁰⁰, apresentou um relato enfatizando a necessidade da realização de testes, porque, segundo afirmação do autor, em 1937, um medicamento não foi submetido aos testes adequados, em animais, e provocou a morte de mais de 100 pessoas sendo, a maioria, crianças.

Na endodontia, os medicamentos, soluções irrigadoras e materiais obturadores, muitas vezes, entram em contato direto com os tecidos, por essa razão testes devem ser realizados, com o intuito de avaliar as reações que tais materiais podem provocar no tecido conjuntivo. Deve-se, buscar, sempre, materiais que possam trazer algum benefício ao paciente ou, pelo menos, não trazer nenhum tipo de desconforto ou agressão ao seu organismo.

O teste de implantação de tubos, contendo materiais, em subcutâneo de animais é clássico, daí a grande quantidade de trabalhos encontrados na literatura^{5, 6, 12, 14, 15,16, 28, 19, 30, 32, 33, 35, 39 41, 45, 47, 48, 49, 51, 54, 55, 56, 57, 76, 81, 82, 83, 86, 90, 96, 108, 109, 111} além disso, esse tipo de teste é muito simples e fácil de ser realizado.

Com relação às propriedades da própolis, muitos trabalhos mostram o seu poder antiinflamatório e sua biocompatibilidade quando testada isoladamente e em diferentes concentrações alcoólicas^{2, 17, 24, 61, 84, 88, 94, 97}.

Segundo a ADA e a ISO a implantação de medicamentos em tecido subcutâneo de animais é classificada como teste secundário, necessitando, o material, passar antes por testes primários como,

por exemplo: citotoxicidade, testes em cultura de células, etc²⁹. Todavia, esses testes apresentam limitações que não permitem correlacionar os resultados, diretamente, com situações clínicas. Neste trabalho, utilizou-se o teste de implantação em tecido subcutâneo de rato, pois, os cimentos empregados já foram, muitas vezes, submetidos aos mais variados testes^{12, 14, 15, 16, 19, 25, 35, 41, 47, 48, 49, 56, 82, 90, 108}.

Os animais mais utilizados para esse tipo de metodologia podem ser os camundongos^{16, 87}, cobaias¹¹¹ e os ratos^{32, 33, 47, 48, 49, 54, 55, 76, 81, 82, 108}. A opção recaiu sobre os ratos por serem animais calmos, menores que os cobaias, o que proporcionou um menor gasto de medicamentos, principalmente, de anestésico, e maiores que os camundongos, o que possibilitou a colocação de mais de um tubo em cada animal, permitindo a realização de um rodízio com os materiais.

A metodologia usada, neste trabalho, também, possibilita a escolha do material com que é confeccionado o tubo a ser implantado. Ele pode ser de teflon^{32, 54, 81}, dentina⁴⁹ ou de polietileno^{16, 23, 55, 82, 108}. A escolha do tubo de polietileno se deveu à facilidade para sua obtenção e desinfecção, a qual foi realizada com solução de hipoclorito de sódio a 1%, por 1 hora. Costa, em 2002²⁹, propôs que os tubos de polietileno fossem desinfetados com álcool 70% por 6 horas ou autoclavados por 30 minutos. Porém, optou-se por deixar em solução de hipoclorito a 1%, uma vez que essa substância apresenta bons resultados em relação, à desinfecção de cones de guta – percha^{27, 42, 95}.

O número de animais, por grupo, e as dimensões dos tubos de polietileno seguiram as normas descritas por COSTA, em 2002²⁹.

A introdução do tubo de polietileno foi realizada com bastante cuidado procurando-se evitar a sua implantação paralela à linha de divulsão, para evitar sua mobilidade e conseqüente expulsão, de acordo com Maurício et al, em 1986⁷⁰, que implantaram tubos de dentina em tecido subcutâneo de ratos. Para esse trabalho isso foi muito importante, pois havia a

preocupação de não se movimentar o tubo evitando, assim, uma possível remoção da própolis.

A implantação do tubo de polietileno pode ser realizada por meio de um trocarte como fez Bortoluzzi em 2005²³, ou utilizando-se uma pinça. Neste trabalho, foi empregada a pinça, pois, com o trocarte poder-se-ia correr o risco da própolis ser removida, por estar ainda úmida no momento da implantação e, porque, nesse caso a divulsão é feita com o próprio trocarte.

Todavia, o uso da pinça, ao comprimir-se o tubo para sua implantação, fez com que, em alguns espécimes ocorresse o extravasamento de cimento para fora do tubo. Tal fato provocou reações diferentes entre tubos que tiveram o material extravasado e os que não o tiveram. Isto obrigou a que a descrição dos eventos histológicos fosse feita considerando-se o extravasamento ou não. Contudo, quando da realização dos cálculos estatísticos essa separação não foi considerada, pois, não se teria uma quantidade adequada de espécimes para os cálculos.

Outro senão, foi em relação à padronização da própolis, que é um tanto complicada. A composição química da própolis, bem como, suas propriedades biológicas e farmacológicas mudam conforme a região e a época do ano em que ela é coletada^{3, 26, 44, 65, 72}.

Neste trabalho foram utilizados dois tipos de própolis com diferentes composições químicas, as quais já haviam sido tipificadas pela Prof^a. Dr^a. Maria Cristina Marcucci³.

A própolis verde (BRP1) possui altos níveis de prenilados, os quais são compostos derivados do ácido p-cumárico, com ação antimicrobiana, antioxidante e antitumoral^{7, 8, 9, 10, 67}. É uma própolis sobre a qual já existem muitos estudos que analisaram sua ação antimicrobiana, suas propriedades químicas e farmacológicas. A própolis vermelha (MAR) possui compostos pouco conhecidos, como: *trans*-anetol, metil-eugenol, isoeugenol, elemína, *trans*-isoelemicina, cicloartenol, lupeol, e flavonóides, como isosartivan, entre outros e, sobre ela existe apenas os estudos de Trusheva et al., 2006¹⁰⁷.

Existem várias formas para a extração dos componentes da própolis, dentre as quais citam-se a maceração e a extração por Soxhlet, que são os métodos mais comuns. A maceração é a mais vantajosa, pois, é o melhor método para extrair as substâncias ativas da própolis sem degradá-las, já que não envolve aquecimento. Assim, a maceração por 20 dias em temperatura ambiente foi a maneira utilizada para a extração dos componentes das própolis utilizadas, neste trabalho.

A remoção quase que total do álcool do extrato das própolis objetivou diminuir o potencial irritativo causado por essa substância e, também, para proporcionar uma consistência mais espessa para a própolis.

Com relação à análise microscópica, a atribuição de escores às estruturas mais significativas que podem ser observadas em uma análise dessa natureza, pode ser utilizada⁸⁷. A avaliação da existência de macrófagos, linfócitos e células gigantes foi realizada por saber-se que, quanto maior o poder irritativo do material, maior será a inflamação causada por ele, refletida no número dessas células. Não se pode deixar de citar que, em relação, a este trabalho houve extravasamento de material e a quantidade em contato com o tecido foi maior do que o esperado, por isso, em muitos casos, não se pode afirmar que a presença de tais células se deve ao poder irritativo químico do material, podendo ser mais uma questão física. A avaliação da quantidade de fibroblastos e da proliferação angioblástica e a quantidade de fibras colágenas foram feitas, uma vez que tais eventos estão intimamente relacionados com o processo de reparo.

6.2- Discussão dos Resultados:

A literatura tem mostrado que os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol têm uma ação agressiva aos tecidos conjuntivos. Neste trabalho, o cimento de óxido de zinco e eugenol puro mostrou resultados superiores aos observados com os outros materiais testados; incluindo-se, entre ele, a própria própolis, da qual esperava-se um melhor desempenho, em

função da sua ação anti-inflamatória^{7, 11, 26, 30, 40, 61, 62, 64, 65, 72, 75, 84, 101}, biocompatibilidade^{2, 24, 69, 94} e sua capacidade de cicatrização^{11, 26, 60, 62, 64, 88}. Segundo Mirzoeva ; Calder em 1996⁷⁵, a própolis tem uma influência significativa na diminuição da produção de LTB4 e LTC4 sem afetar a produção de PGE2, inibe a produção de eicosanóides, que podem afetar a resposta imune e inflamatória. O CAPE (cafeato de feniletila) é o composto da própolis que contribui para a sua ação antiinflamatória, entretanto, nas própolis brasileiras, ele não foi identificado. Assim, os resultados encontrados, neste trabalho, com o cimento de óxido de zinco e eugenol, estão discordando com os obtidos em outros trabalhos os quais testaram as mais variadas marcas de cimento à base de óxido de zinco e eugenol^{5, 6, 12, 14, 15, 19, 28, 31, 35, 41, 45, 47, 49, 51, 54, 82, 111} e mostraram que o mesmo tem ação irritante maior que os outros cimentos testados. Não pairam dúvidas de que o elemento irritante desse tipo de cimento é o eugenol, e a maior ou menor reação inflamatória está na dependência da quantidade de eugenol presente no cimento^{31, 45, 48}. No trabalho de Holland et al em 1973⁴⁸, foi avaliada a biocompatibilidade de quatro tipos de cimentos obturadores de canal radicular à base de óxido de zinco e eugenol, variando-se a proporção pó – líquido. Os autores encontraram respostas inflamatórias mais intensas nos grupos onde o cimento apresentava uma proporção maior de líquido.

Segundo Santos et al em 2004⁹¹, o óxido de zinco tem a capacidade de inibir MMP-2 e MMP-9, metaloproteinases importantes no processo da inflamação, isto é, quanto mais MMP-2 e MMP-9, maior será a inflamação.

Partindo do princípio de que, quanto menor a quantidade de eugenol no cimento, menor é a irritação causada pelo mesmo e, quanto maior a quantidade de óxido de zinco, menor quantidade de MMP-2 e MMP-9, com conseqüente menor inflamação, talvez, os resultados encontrados neste trabalho, em relação ao cimento de óxido de zinco e eugenol puro, estejam dentro da normalidade. Deve ser levado em consideração que a

necessidade de uma consistência bastante espessa do cimento, para ser utilizado como material retrobturador, possibilitou uma redução significativa da quantidade de eugenol, aumentando, em muito, a proporção pó/líquido (0,6g/0,2mL) em relação à consistência para obturação de canais radiculares que é de 0,18g/0,1 mL, segundo Moraes 1981⁷⁸.

Assim, ao se diminuir a quantidade de eugenol, diminui-se o potencial irritante do cimento. Se for levado em consideração o efeito do óxido de zinco, na redução das MMP-2 e MMP-9, o aumento da sua proporção poderia melhorar a biocompatibilidade do cimento.

O cimento Sealer 26, que é um cimento à base de resina epóxica, mas que possui em sua formulação o hidróxido de cálcio, provocou maiores reações inflamatórias do que o cimento de óxido de zinco e eugenol. Tanomaru Filho et al^{104, 105}, encontraram bons resultados, com esse cimento, na proporção pó/líquido utilizada neste trabalho.

O Sealer 26 é um cimento derivado do AH26 e possui, em sua fórmula, quase todos os componentes do AH26, diferenciando-se apenas na proporção dos mesmos e na presença do hidróxido de cálcio que foi adicionado em substituição à prata pulverizada, presente no AH 26; sendo a quantidade de hidróxido de cálcio muito maior do que a da prata. Outro fator importante a ser analisado é a quantidade de hexametilenotetramina (endurecedor do cimento) presente no pó do Sealer 26, que, segundo Sacomani 2001⁹⁰ gira em torno de 15%, contra os 25% do AH26.

O cimento AH26, bem como o Sealer 26, são cimentos propostos para serem utilizados em obturações de canais radiculares. Vários trabalhos têm demonstrado que a ação irritante do cimento AH26 é decorrente da resina epóxica (Bisfenol A)^{13, 34}. Em contra – partida, Economides et al, 1995³², Ersev et al 1999³⁴, consideraram ser a hexametilenotetramina a responsável pelo poder irritante do cimento, devido à liberação de formaldeído.

Essas controvérsias observadas em diversos trabalhos permitem deduzir que é importante que exista um equilíbrio entre a quantidade de resina e o endurecedor (hexametenotetramina), já que ambos são acusados de possuir ação irritante.

No cimento de óxido de zinco e eugenol, a diminuição da quantidade de líquido (eugenol) faz com que as propriedades biológicas desse cimento, sejam melhoradas, já que a ação irritante do material é devido ao eugenol. Assim, reduzindo-se a quantidade do irritante, tem-se uma melhora sensível na qualidade do material, sem contar com a ação do próprio óxido de zinco.

No cimento AH26 e Sealer 26, este último utilizado neste trabalho, a alteração da proporção pó-líquido, com o objetivo de aumentar a consistência do cimento, talvez, possa ter provocado um desequilíbrio entre resina e endurecedor. Como o endurecedor está presente no pó, logo, um aumento deste, fará com que parte da hexametenotetramina permaneça sem reagir, com potencial de liberação de formaldeído.

Neste trabalho, o Sealer 26 foi utilizado na proporção de 0,24g/0,048mL, ou seja, a proporção foi de 5 partes de pó para uma de resina, visando a obtenção da consistência mais usual de um material retrobturador, seguindo sugestões de Tanomaru Filho et al^{104, 105}.

Considerou-se oportuno realizar algumas considerações acerca do problema proporção pó/líquido desse cimento.

Segundo o fabricante do Sealer 26, a proporção pó/líquido, para obturação de canais pode girar em torno de 2/1 a 3/1. A proporção recomendada para o AH26 é de 2/1. Partindo do princípio de que, no AH26 a quantidade de hexametenotetramina é de 25% do pó, ao se colocar 2 porções de pó, ter-se-ia 50% em relação ao líquido. Se, no Sealer 26, segundo Sacomani 2001⁹⁰, a hexametenotetramina entra na composição do pó, em 15%, na proporção de 2/1, ter-se-ia 30% de hexametenotetramina e na de 3/1,

45%, em relação a quantidade de resina. Mesmo na proporção de 3/1 (45% de hexametilenotetramina), não se atinge a quantidade dessa substância no AH26, na proporção 2/1. Se analisada a proporção 5/1 utilizada neste trabalho, necessária para obter a consistência ideal de um cimento retrobturador, ver-se-á que a proporção de hexametilenotetramina, excedeu, em 25%, à observada em relação ao AH26, isto é, 75% de hexametilenotetramina no Sealer 26 (5 x 15%), contra 50% do AH26 (2 x 25%).

Muitos trabalhos têm demonstrado que a resina epóxica do AH26 ou do próprio Sealer 26, seria a causa dos maus resultados biológicos apresentados por esse cimento. Outros responsabilizam os componentes do pó, principalmente a hexametilenotetramina, em razão da liberação de formaldeído proporcionada por essa substância. Portanto, pairam dúvidas sobre o excesso de hexametilenotetramina, na proporção 5/1, ou na sua falta, considerando a proporção 2/1, comparando-se com o AH26 (2/1). Assim, nesta proporção (2/1), no caso do Sealer 26, provavelmente, parte da resina permanece sem sofrer polimerização, podendo agir como irritante.

Na proporção maior (5/1), certamente, parte da hexametilenotetramina, que não reagiu com a resina, poderia ser uma fonte da maior liberação de formaldeído, por um tempo mais prolongado e, talvez, em maior quantidade, nos casos de extravasamento.

Há que ressaltar que quando são considerados os resultados da análise descritiva; mesmo não tendo sido realizados testes estatísticos, observa-se que houve um maior número de extravasamento do Sealer 26 do que do óxido de zinco e eugenol. Paradoxalmente, foram nesses casos de extravasamento onde foram observadas as ações mais agressivas do cimento Sealer 26. Com o extravasamento, a área de contato do material com o tecido conjuntivo aumenta e, assim, há uma resposta inflamatória maior, tanto devido a ação irritante do material como também devido à própria irritação física.

É esperado, pelas suas características que o cimento Sealer 26, no interior do tubo, deva sofrer pouca solubilização, conseqüentemente, pouca liberação de formaldeído ou da própria resina, nos períodos pós presa do cimento. Contudo, na intimidade do tecido, quando do extravasamento, pela ação dos fluídos tissulares e das próprias células de defesa do organismo, a possibilidade de se expor a resina e a própria liberação da hexametilenotetramina, com suas conseqüentes ações irritantes, é bem maior. Provavelmente, uma área maior de material irá permitir a liberação de uma quantidade de agente injuriante se ele o possuir. Quando o material está contido no tubo, a área de liberação fica confinada ao diâmetro do tubo. No caso de extravasamento há uma área muito maior de contato do material com o tecido. Talvez, isso possa explicar as maiores reações inflamatórias, observadas quando do extravasamento do cimento Sealer 26, além da própria presença física do mesmo. Bernáth; Szabó¹⁸ encontraram respostas teciduais diferentes ao avaliar os cimentos no interior do canal radicular e quando esse era extravasado para a região periapical. É fato notório a influência do extravasamento, pois Mazuqueli et al⁷¹, observaram que o cimento MTA, um material extremamente biocompatível, quando utilizado em dentes de cães, como material obturador de canal mostrou resultados superiores quando contido no interior do canal cementário em comparação aos casos que sofreram sobreobturações. Também Suzuki et al¹⁰², avaliaram a ação de diferentes cimentos extravasados ou não, encontrando piores resultados quando ocorreu o extravasamento dos cimentos.

Os resultados deste trabalho vão contra os encontrados por Tanomaru Filho et al^{104, 105}, que ao testarem o Sealer 26, na mesma proporção pó/líquido, em subcutâneo de rato e em dentes de cães, respectivamente, encontraram ótimas respostas, muito semelhante às proporcionadas pelo MTA. Isso reforça a hipótese de que o mau comportamento do Sealer 26, neste trabalho, provavelmente, está diretamente relacionado com o extravasamento.

Em relação à própolis, a maior dificuldade quando se trabalha com essa substância está relacionada com a grande quantidade de seus componentes químicos e, também, à grande variedade, quando se compara uma própolis com outra, de diferentes localidades^{3, 7, 26, 44, 72}.

Entretanto, neste trabalho foi utilizada própolis padronizadas com características de composição química quantitativa dos marcadores, sendo que as comparações poderão ser feitas no futuro com as amostras da mesma classificação química.

A própolis brasileira é uma das mais ricas em componentes químicos devido à grande variedade de plantas existentes no nosso país^{3, 7, 26, 65, 68, 72, 92}. Além da variedade de plantas de uma área para outra, a sazonalidade influencia diretamente na qualidade da própolis^{7, 44, 65}, pois, a quantidade de alguns produtos, principalmente a produção de cera está diretamente relacionada à qualidade dessa própolis e na quantidade de produtos ativos. Existe mais cera nos períodos em que as resinas estão mais escassas ou difíceis de serem coletadas. Ou seja, quanto mais variedade de plantas e de seus produtos, menor será a quantidade de cera e melhor será a qualidade dessa própolis. Esta variação depende, também, de onde a própolis será utilizada na colméia, isto é; se for para reparar o favo, tem maior quantidade de cera, que é para dar firmeza, do que quando é aplicada na parte superficial da colméia que é uma camada fina, usualmente, com pouca cera²⁶. No trabalho de Gregório⁴⁴, o autor comprovou que houve mudanças significativas na composição polínica, no perfil químico e na atividade antimicrobiana de uma própolis extraída de uma mesma região, mas em épocas diferentes.

Neste trabalho, a presença da própolis não influenciou de maneira significativa a reação provocada pelos cimentos. Pode-se observar uma pequena superioridade da própolis MAR (vermelha) em relação à própolis BRP-1 (verde), com diferenças estatísticas significantes em relação à quantidade de macrófagos presentes quando foi utilizada junto com o

cimento de óxido de zinco e eugenol, apenas no período de 30 dias (Tabela 3), e, também, pela análise descritiva.

A proposta deste trabalho foi a de utilizar a própolis com a menor quantidade possível de álcool, devido às propriedades irritantes do mesmo, por isso optou-se pelo uso do extrato mole de própolis, que tem uma quantidade mínima de álcool. Porém, Peruchi em 2001⁸⁸, comprovou que o extrato de própolis a 10% promoveu melhor neo formação de fibras colágenas e epitelial ao se comparar com extrato de própolis a 30%. Levanta-se a hipótese de que, talvez, seja necessário uma quantidade ideal de álcool para que todos os componentes benéficos da própolis sejam liberados.

Com relação à proporção da própolis, Martim; Pileggi, em 2004⁶⁹, utilizaram a própolis em duas concentrações diferentes (50% e 100%) como substância para estocar dentes avulsionados e concluíram que a própolis se comportou muito melhor que as outras substâncias testadas e que não houve diferença estatisticamente significativa entre as duas concentrações.

Levando-se em consideração a quantidade de macrófagos, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa, apenas quando se comparou o Sealer 26 puro com o cimento de óxido de zinco e eugenol, também puro, no período de 7 dias. Todavia, esse último apresentou uma quantidade maior de macrófagos, mas com o passar do tempo houve uma tendência a se igualarem. Porém, quando foram comparados os casos do Sealer 26 puro, com os do Sealer 26 recoberto com as própolis BRP-1 e MAR, em nenhum período de tempo houve diferença estatística significativa. Notou-se um aumento na quantidade de macrófagos, com o passar do tempo, quando foi testado o Sealer 26 com a própolis BRP1; acredita-se que a própolis tenha um período útil de ação e, com o tempo passado, os seus princípios ativos devem ir se esgotando, e em períodos mais tardios, permanece, apenas, a resina, agindo como um corpo estranho. Essa afirmação está de acordo com Magro Filho 1987⁶¹, onde, a própolis teve uma boa biocompatibilidade até 10 dias pós-operatórios promovendo, de forma mais acelerada, a neo formação do tecido conjuntivo, mas, após esse período essa característica decresceu. O

autor afirmou que há um limite na liberação dos princípios ativos da própolis, permanecendo apenas o veículo utilizado. Também, em 1990, o mesmo autor⁶² observou que a própolis influenciou favoravelmente, apesar de não marcante, o reparo de alvéolos durante o período inicial de pós-operatório.

Com relação à utilização do cimento de óxido de zinco e eugenol, pode-se observar uma diferença entre o cimento puro, que apresentou uma maior quantidade de macrófagos, e quando da utilização da própolis MAR, aos 7 dias. Todavia, a quantidade de macrófagos presentes, quando utilizada a própolis MAR com o óxido de zinco e eugenol, aumentou, diferentemente do citado acima, com o Sealer 26, onde foi observada uma diminuição com o passar do tempo e, em relação ao cimento puro. Tatefuji, em 1996¹⁰⁶, ao analisar uma própolis extraída em Manaus, percebeu que alguns componentes aumentavam a motilidade e a difusão dos macrófagos. Com relação à própolis BRP1 com o cimento de óxido de zinco e eugenol, tal fato não foi observado. Aos 30 dias, notou-se uma grande quantidade de macrófagos, com diferença estatisticamente significativa entre esse tratamento (BRP-1) e o cimento puro e com a própolis MAR. Este fato pode ser explicado pela grande quantidade de material extravasado, nesse período, aumentando, assim, a necessidade de mais macrófagos na região para tentar fagocitar todo o material. Nesse período, detectou-se, também, diferença estatística entre o cimento de óxido de zinco e eugenol recoberto com a própolis MAR e com o cimento puro, o qual apresentou uma quantidade menor de macrófagos. Aos 60 dias não houve diferença estatística entre os espécimes. Numericamente, o cimento de óxido de zinco e eugenol apresentou a menor quantidade (1,16). Já maior quantidade foi apresentada pelo Sealer 26 com BRP1 e cimento de óxido de zinco e eugenol com MAR (2,16).

Com relação ao número de células gigantes presentes, não foi observada nenhuma diferença estatística em nenhum período e em nenhuma situação. As maiores médias apareceram aos 30 e 60 dias, uma vez que essas células aparecem em reações mais tardias, por se tratar de macrófagos “antigos” que se unem para eliminar algo estranho ao organismo.

Mesmo não tendo sido feita uma análise estatística, em relação à quantidade de material extravasado e à quantidade de células inflamatórias presentes, pode-se notar que, quanto maior o extravasamento maior foi a quantidade de células gigantes; essa afirmação só poderá ser concretizada após a análise descritiva das lâminas.

Em relação às médias de escores atribuídos à quantidade de fibroblastos, observa-se que elas foram altas, havendo diferença estatística aos 7 dias entre o Sealer 26 puro e quando da aplicação da própolis MAR, sendo que essa última, com o passar do tempo, teve o número de fibroblastos aumentado, com a maior média aos 30 dias, permanecendo, praticamente, constante até os 60 dias. Houve diferença, também, em relação ao cimento de óxido de zinco e eugenol puro e quando da aplicação da própolis MAR, a qual também teve uma média menor, porém, ela foi aumentando no final do período, semelhantemente à situação encontrada com o Sealer 26. Aos 30 dias a diferença estatística foi encontrada entre o cimento de óxido de zinco e eugenol puro e quando aplicada a própolis BRP 1 e entre o Sealer 26 puro e o óxido de zinco e eugenol puro. Apesar dessas diferenças, no final de 60 dias a quantidade se manteve estável, proporcionando, aos materiais testados, uma característica considerada boa. Isso pode ser confirmado quando analisada a tabela 4 onde estão dispostas as médias atribuídas à quantidade de fibras colágenas e, também, pela análise descritiva e pelas figuras (Figura 20 a 58). Pode-se notar uma quantidade satisfatória de fibras colágenas com diferença estatística apenas entre o Sealer 26 puro e o Sealer 26 com a própolis BRP-1. O Sealer 26 puro apresentou a maior média de fibras colágenas.

Houve diferença estatisticamente significativa entre as substâncias testadas, com relação à quantidade de vasos sanguíneos quando comparado o Sealer 26 acrescido de própolis BRP-1 com o cimento de óxido de zinco e eugenol, também acrescido da mesma própolis. O cimento de óxido de zinco e eugenol proporcionou uma maior angiogênese que o Sealer 26, mas em outros períodos permaneceu, praticamente, constante com uma certa semelhança entre eles. Isso vai contra os resultados de Song et al, em 2002⁹⁹,

que concluíram que o extrato de própolis diminui a angiogênese. Deve sempre ser lembrado de a própolis utilizada por Song et al, em 2002⁹⁹, teve a concentração diferente da utilizada neste trabalho, além de ser de diferentes lugares. Todos esses fatores, certamente, vão influenciar no resultado final.

Por fim, com relação aos linfócitos, estes se apresentaram de forma muito escassa. Contudo, aos 7 dias, pode-se notar diferença estatística significativa entre o Sealer 26 puro e o cimento de óxido de zinco e eugenol puro, o qual apresentou uma maior média na quantidade de linfócitos. Já, no período de 30 dias, houve diferença entre os cimentos quando foram testados na forma pura, sem aplicação de própolis, com maior atração de linfócitos provocada pelo cimento Sealer 26; também houve diferença estatisticamente significativa entre o Sealer 26 puro e quando acrescentadas as própolis, independentemente do tipo; o material puro apresentou uma maior média. Aos 60 dias não houve diferença estatística entre os materiais testados e os linfócitos tenderam a desaparecer.

Fica muito difícil ter-se algum parâmetro de comparação, deste trabalho, com outros existentes na literatura, uma vez que poucos trabalhos, testaram o Sealer 26 e o cimento de óxido de zinco e eugenol em uma consistência mais pesada, e, devido ao grande desenvolvimento de novos materiais, atualmente, esses tipos de cimentos deixaram de ser pesquisados, na maioria dos estudos. Pelos resultados observados, neste trabalho, o cimento de óxido de zinco e eugenol mostrou ser uma ótima opção para casos de cirurgia parodontológica, quando não se puder lançar mão de materiais mais atuais.

A própolis, também, é outra substância que, apesar de ser muito utilizada e ter muitos trabalhos nas áreas Farmacêutica, Química, Médica e, até mesmo na Odontologia; o extrato mole não havia sido utilizado em tecido subcutâneo de rato. Também, em relação à própolis MAR, existem poucos trabalhos já, que os estudos com essa própolis estão se iniciando. Há, ainda, o fato dos trabalhos apresentarem própolis de diferentes regiões, o que muda o resultado final. Seria interessante isolar os componentes da própolis e

utilizá-los sozinhos como já foi feito com o ácido cafeico nos trabalhos de Mizoeva; Calder 1996⁷⁵, Montpied et al 2003⁷⁷, pois, só assim, poder-se-ia ter uma padronização no uso da própolis.

Um outro assunto pertinente para próximas pesquisas é avaliar a própolis menos concentrada e avaliar a sua capacidade de obliterar os túbulos dentinários da área apicectomizada. Segundo Mahmoud et al em 1999⁶³, Almas et al, em 2001¹ a própolis pode obliterar túbulos dentinários e, inclusive, auxiliar no tratamento de hipersensibilidade dentinária. Mahmoud et al, em 1999⁶³, testaram a própolis em pacientes de um hospital na Arábia Saudita e observaram ótimos resultados quando era aplicada uma camada de própolis nas regiões de exposição dentinária. Almas et al, em 2001¹, observaram, ao MEV, a obliteração dos túbulos dentinários pela própolis. Sugere-se o uso da própolis na região apicectomizada, pois, essa possível obliteração dos túbulos dentinários poderia prevenir possíveis infiltrações. Além dessa obliteração física, há que serem consideradas as ações farmacológicas, principalmente, a antibacteriana, no caso de permanência de alguma contaminação, principalmente, na região do dente, mesmo após apicectomia. A própolis MAR estaria indicada, uma vez que apresentou um melhor desempenho que a própolis BRP-1. Contudo, outros testes devem ser realizados com ambas as própolis, em concentrações diferentes.

Considerações Gerais

Considerando-se os resultados deste trabalho, observa-se que a utilização das própolis, no geral, não proporcionou resultados, de todo satisfatórios, como poderia se esperar, nem tão decepcionantes.

Partindo do princípio de que os cimentos utilizados nessa pesquisa, apresentaram resultados divergentes, mas que podem ser considerados até satisfatórios, a utilização da própolis, aplicada sobre a extensão radicular, exposta pela apicectomia, recobrando-a totalmente, bem como o próprio material retrobturador talvez pudesse ser uma alternativa viável em casos de obturação retrógrada.

Com o corte da porção apical da raiz (apicectomia), necessidade inerente para a realização da obturação retrógrada, há a exposição de túbulos dentinários, por onde pode ocorrer alguma infiltração. Ademais, considerando-se que, geralmente, casos que necessitam dessa modalidade cirúrgica são decorrentes de fracassos endodônticos, nunca há a certeza de que houve a remoção completa de área contaminada, seja por bactéria ou por seus produtos.

Assim, a aplicação da própolis após uma obturação retrógrada teria múltiplas funções, quais sejam obliterar túbulos dentinários expostos pela apicectomia, isolar o material retrobturador e exercer as suas propriedades farmacológicas.

Neste trabalho, foram utilizados os extratos moles de dois tipos de própolis. Sendo o extrato mole bastante viscoso, com baixo teor de álcool e alto de resina, há certa demora para que ocorra o seu endurecimento completo, formando uma película protetora. Em concentrações mais baixas, com maior teor de álcool, essa película forma quase que imediatamente após a aplicação da própolis. Provavelmente, a quantidade de resina para ser eliminada pelas células, nesse caso, deve ser menor. Assim sendo, talvez o extrato mole da própolis, não seja a melhor opção para a aplicação na intimidade do tecido; em ferimentos externos, superficiais, pode ser bem indicado.

Outro ponto que deve ser enfatizado é que a própolis age por sinergismo, ou seja, é necessário que todos os seus componentes sejam liberados e atuem em conjunto. No extrato mole a quantidade de álcool é pequena e não permite a liberação de todos os componentes.

Ao final podem ser feitas as seguintes constatações:

Em relação à própolis:

- No geral, a própolis tem sido bastante avaliada e tem mostrado um grande potencial de uso em toda a Odontologia, não apenas na Endodontia. A maior dificuldade para obtenção de uma própolis, sempre com as mesmas características está na grande variedade de seus princípios ativos

e na diversificação entre as regiões, e as épocas do ano. Talvez, ela possa vir a ser um dos componentes ativos de um cimento endodôntico.

- Ao se utilizar uma própolis tipificada e sabendo quais são os seus componentes, pode-se comparar os resultados com mais clareza e com mais segurança científica do que quando se utiliza própolis sem saber a sua procedência.

Em relação aos cimentos:

- Os cimentos apresentaram comportamentos diferentes quando dentro (não extravasado) e fora (extravasado) do tubo. Considerando que, na obturação retrógrada a possibilidade de extravasamento inexistente, pelas reações microscópicas observadas, neste trabalho, nas proporções pó/líquido utilizadas, os cimentos Sealer 26 e o óxido de zinco e eugenol são boas opções para materiais retrobturadores, quando, por diversos motivos, não for possível lançar mão de outros materiais mais atuais, considerados de melhor desempenho.

7- CONCLUSÕES:

7- Conclusões:

De acordo com a metodologia empregada nesta pesquisa e considerando-se os resultados, pode-se concluir que:

- O cimento à base de óxido de zinco e eugenol comportou-se melhor do que o Sealer 26.
- Em relação às própolis, a tipo MAR comportou-se de maneira superior à BRP1, apesar de não haver diferença entre as duas.
- A aplicação das própolis, recobrindo os cimentos, interferiu significativamente no número de macrófagos, fibroblastos, fibras colágenas e linfócitos em relação aos cimentos puros, todavia, não comprometendo o seu uso.

ANEXOS:

Anexo1:**Sealer 26 puro – 7 dias****Com extravasamento**

Espécime	Estrutura					
	Macrof.	Cel. Gig.	Fibrob.	Fibras Col.	Vas. San.	Linfoc.
A22	2	3	3	2	1	1

Sem extravasamento

Espécime	Estrutura					
	Macrof.	Cel. Gig.	Fibrob.	Fibras Col.	Vas. San.	Linfoc.
A11	1	0	3	2	1	1
A33	1	0	3	2	1	0
A41	1	0	2	1	2	0
A52	2	0	3	2	1	0
A63	2	0	3	3	2	1

Anexo2:**Sealer 26 / BRP1 – 7 dias****Com extravasamento**

Espécime	Estrutura					
	Macrof.	Cel. Gig.	Fibrob.	Fibras Col.	Vas. San.	Linfoc.
A12	3	2	3	2	1	1
A31	2	1	3	1	1	1
A61	2	1	3	1	1	1

Sem extravasamento

Espécime	Estrutura					
	Macrof.	Cel. Gig.	Fibrob.	Fibras Col.	Vas. San.	Linfoc.
A23	1	0	2	3	1	0
A42	1	0	2	2	1	0
A53	1	0	2	2	1	0

Anexo 3:**Sealer 26 / MAR – 7 dias****Com extravasamento**

Espécime	Estrutura					
	Macrof.	Cel. Gig.	Fibrob.	Fibras Col.	Vas. San.	Linfoc.
A32	3	0	2	1	2	0
A43	2	0	2	2	2	1

Sem extravasamento

Espécime	Estrutura					
	Macrof.	Cel. Gig.	Fibrob.	Fibras Col.	Vas. San.	Linfoc.
A13	2	0	2	2	1	0
A21	2	0	1	3	1	1
A51	2	0	2	3	1	1
A62	1	0	2	2	1	0

Anexo 4:**OZE puro – 7 dias****Sem extravasamento**

Espécime	Estrutura					
	Macrof.	Cel. Gig.	Fibrob.	Fibras Col.	Vas. San.	Linfoc.
A71	2	0	3	3	1	1
A83	2	0	3	2	2	2
A93	2	0	3	2	2	1
A101	2	0	3	2	2	1
A112	2	0	3	3	2	1
A123	3	0	3	3	2	1

Anexo 5:**OZE / BRP1 – 7 dias****Com extravasamento**

Espécime	Estrutura					
	Macrof.	Cel. Gig.	Fibrob.	Fibras Col.	Vas. San.	Linfoc.
A72	2	0	2	2	1	1
A102	3	2	2	1	1	1

Sem extravasamento

Espécime	Estrutura					
	Macrof.	Cel. Gig.	Fibrob.	Fibras Col.	Vas. San.	Linfoc.
A83	1	0	2	3	2	0
A91	2	0	3	3	2	0
A113	1	0	3	3	2	0
A121	2	0	2	3	2	1

Anexo 6:**OZE / MAR – 7 dias****Com extravasamento**

Espécime	Estrutura					
	Macrof.	Cel. Gig.	Fibrob.	Fibras Col.	Vas. San.	Linfoc.
A111	1	0	1	3	1	0
A122	2	1	2	2	1	1

Sem extravasamento

Espécime	Estrutura					
	Macrof.	Cel. Gig.	Fibrob.	Fibras Col.	Vas. San.	Linfoc.
A73	1	0	3	2	2	0
A81	1	0	2	2	1	0
A92	2	0	2	3	1	1
A103	1	0	2	3	1	0

Anexo 7:**Controle vazio – 7 dias**

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
ContA1	0	0	2	2	2	0
ContA3	0	0	3	2	0	0

Anexo 8:**Controle guta - percha – 7 dias**

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
ContA2	1	0	3	2	2	1
ContA4	1	0	3	2	1	0

Anexo 9:**Sealer 26 puro – 30 dias****Com extravasamento**

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
B22	2	2	3	3	2	1
B41	3	0	3	3	1	1
B63	3	3	3	3	2	1

Sem extravasamento

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
B11	2	0	3	2	1	0
B33	1	0	3	3	2	0
B52	1	0	3	3	2	1

Anexo 10:**Sealer 26 / BRP1 – 30 dias****Com extravasamento**

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
B12	2	1	2	3	2	0
B42	2	2	3	2	1	0
B53	3	3	2	3	2	0

Sem extravasamento

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
B23	2	0	3	3	1	0
B31	1	0	2	3	1	0
B61	1	0	3	3	1	0

Anexo 11:**Sealer 26 / MAR – 30 dias****Com extravasamento**

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
B21	3	1	3	2	1	0
B43	2	1	2	2	2	0
B62	2	2	3	3	2	0

Sem extravasamento

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
B13	1	0	3	3	1	0
B32	1	0	3	3	1	0
B51	1	0	3	3	2	0

Anexo 12:**OZE puro – 30 dias****Sem extravasamento**

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
B71	1	1	2	3	1	0
B82	1	0	2	3	1	0
B93	1	0	2	3	2	0
B101	1	0	2	3	1	0
B112	1	0	2	3	1	0
B123	2	0	3	2	1	0

Anexo 13:**OZE /BRP1 – 30 dias****Com extravasamento**

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
B83	2	1	3	3	3	0
B102	2	1	3	2	2	0
B121	3	1	3	3	1	0

Sem extravasamento

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
B72	2	0	3	2	1	0
B91	3	0	3	3	2	0
B113	2	0	3	3	2	0

Anexo 14:**OZE / MAR – 30 dias****Com extravasamento**

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
B103	3	1	3	2	1	1

Sem extravasamento

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
B73	1	0	3	3	2	0
B81	1	0	2	3	1	0
B92	2	0	2	2	2	0
B111	1	0	3	2	1	0
B122	1	0	3	3	2	0

Anexo 15:**Controle vazio – 30 dias**

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
ContB1	1	0	2	3	1	0
ContB3	1	0	2	3	1	0

Anexo 16:**Controle guta - percha – 30 dias**

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
ContB2	2	0	3	2	2	0
ContB4	2	0	3	2	2	0

Anexo 17:**Sealer 26 puro – 60 dias****Com extravasamento**

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
C22	3	2	3	3	3	0
C41	2	2	3	3	1	0

Sem extravasamento

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
C63	1	0	2	3	1	0
C11	2	0	3	3	1	0
C33	1	0	2	3	1	0
C52	1	0	2	3	1	0

Anexo 18:**Sealer 26 / BRP1 – 60 dias****Com extravasamento**

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
C12	3	1	2	2	1	0
C23	3	1	2	2	1	0
C53	3	3	3	3	2	0

Sem extravasamento

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
C31	1	0	2	2	1	0
C42	1	0	2	2	2	0
C61	2	0	3	2	1	0

Anexo 19:**Sealer 26 / MAR – 60 dias****Com extravasamento**

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
C21	2	1	3	3	2	1
C32	2	1	3	2	2	0
C51	2	0	3	2	2	0

Sem extravasamento

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
C13	1	1	2	3	2	0
C43	1	0	2	3	1	0
C62	1	0	2	3	2	0

Anexo 20:**OZE puro – 60 dias****Sem extravasamento**

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
C71	1	0	2	3	1	0
C82	1	0	2	3	2	0
C93	1	0	2	3	2	0
C101	1	0	2	3	2	0
C112	2	0	3	2	1	1
C123	1	0	2	3	3	0

Anexo 21:**OZE / BRP1 – 60 dias****Com extravasamento**

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
C72	2	2	3	2	3	0
C102	3	3	3	2	2	0

Sem extravasamento

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
C83	1	0	2	3	1	0
C91	1	0	2	3	1	0
C113	1	0	2	3	1	0
C121	1	0	2	3	1	0

Anexo 22:**OZE / MAR – 60 dias****Com extravasamento**

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
C81	3	1	3	2	2	0
C92	3	0	3	2	2	0

Sem extravasamento

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
C73	3	0	3	2	3	0
C103	2	0	2	3	1	0
C111	1	0	2	3	2	0
C122	1	0	2	3	1	0

Anexo 23:**Controle vazio – 60 dias**

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
ContC1	2	0	3	3	2	0
ContC3	2	0	3	3	2	0

Anexo 24:**Controle guta - percha – 60 dias**

Espécime	Estrutura					
	Macr.	Cel. Gig.	Fibrob.	F. Colag.	V. sang.	Linfoc.
ContC2	2	0	2	3	2	0
ContC4	2	0	2	2	1	0

REFERÊNCIAS:

Referências:

- 1 ALMAS, K.; MAHMOUD, A. S.; DAHLAN, A. A. A comparative study of propolis and saline application on human dentin. A SEM study. **Indian J Dent Res**, Ahmedabad, v. 12, n. 1, p. 21-27, Jan.Mar. 2001.
- 2 AL-SHAHER, A. et al. Effect of própolis on human fibroblasts from the pulp and periodontal ligament. **J Endod**, Chicago, v. 30, n. 5, p. 359-361, May 2004.
- 3 AMOSTRA de saúde. **Pesq. FAPESP**, n. 83, p. 72-5, jan. 1999.
- 4 ANTUNES, R. M. P.; CATÃO, R. M. R.; CEVALLOS, B. S. O. Atividade antimicrobiana da própolis **Rev Bras Farm**, v. 77, n. 1, p. 15-18 1996.
- 5 ARAKI, K. et al. Reduced cytotoxicity of a root canal sealer though eugenol substitution. **J Endod**, Chicago, v. 19, n. 11, p. 554-557, Nov. 1993.
- 6 AZAR, N. G. et al. In vitro cytotoxicity of a new epoxy resin root canal sealer. **J Endod**, Chicago, v. 26, n. 8, p.462-465 Aug. 2000.
- 7 BANSKOTA, A.H. et al. Chemical constituents of brazilian propolis and their cytotoxic activities. **J Nat Prod**, Cincinnati, v.61, n. 7 p.896-900, July 1998.
- 8 BANSKOTA, A.H. et al. Cytotoxic hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. **J Ethnopharmacol**, Lausanne, v.72, n. 1/2, p.239-246, Sept. 2000.
- 9 BANSKOTA, A.H. et al. Two novel cytotoxic benzofuran derivatives from Brazilian propolis. **J Nat Prod**, Cincinnati, v.63, n. 9, p.1277-1279, Sept. 2000.
- 10 BANSKOTA, A.H. et al. Hepatoprotective and anti Helicobacter pylori activities of constituents from Brazilian propolis. **Phytomedicine**,

- Stuttgart, v.8, n. 1, p.16-23, Jan. 2001.
- 11 BARBOSA, A. P. M. et al. Efeito da própolis em lesões ulceradas da mucosa bucal de ratos. **Pesqui Odontol Bras**, São Paulo, v. 16, Supl, Abst. Pb 190, 2002.
 - 12 BARBOSA, S. V.; ARAKI, K.; SPANGBERG, L. S. W. Cytotoxicity of some modified root canal sealers and their leachable components. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol**, Saint Louis, v. 75, n. 3, p. 357-361, Mar. 1993.
 - 13 BENATTI NETO, C. et al. Reação do tecido conjuntivo subcutâneo de rato ante a implantação dos materiais componentes do AH26. **Rev Bras Odont**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 6, p. 11-20, nov./dez. 1982.
 - 14 BENATTI NETO, C. et al. Materiais obturadores de canais radiculares: avaliação do comportamento tecidual das reações apical e periapical em dentes de cães de alguns produtos comerciais empregados em obturações de canais radiculares. **Rev Gaúcha Odontol**, Porto Alegre, v. 34, n. 5, p. 376-380, set./out. 1986.
 - 15 BERBERT, C. C. V.; CONSOLARO, A. Influência de cimentos endodônticos na migração neutrofílica pelo teste de skin window. **Rev Fac Odontol Bauru**, Bauru, v. 2, n. 2, p. 81-87, abr./jun. 1994.
 - 16 BERGAMINI, C. B. J. **Estudo da biocompatibilidade dos cimentos obturadores Sealer 26, Endométhasone e Fill Canal em subcutâneo de camundongos**. Bauru, 1998. 72p. Monografia (Especialização em Endodontia) – HPRLLP, Universidade de São Paulo.
 - 17 BERNARDO, C. L. E. et al. Própolis – cicatrizante e antibiótico natural. **Rev Bras Enferm**, Brasília, v. 43, n. 1, 2, 3/4, p. 101-106, jan./dez. 1990.
 - 18 BERNATH, M; SZABO, J. Tissue reaction initiated by different sealers. **Int. Endod**, Oxford, v. 36, n. 4, p. 256-261, Apr. 2003.

-
- 19 BEZERRA SILVA, L. A. et al. Inflammatory response to calcium hydroxide based root canal sealer. **J Endod**, Chicago, v. 23, n. 2, p. 86-90, Feb. 1997.
 - 20 BOCK, M. P. et al. Cafeic acid phenethyl ester (CAPE) prevents inflammatory stress in organotypic hippocampal slice cultures. **Brain Res Mol Brain Res**, Amsterdam, v. 115, n. 2, p. 111-120, July 2003.
 - 21 BONHEVI, J.S.; COLL, F.V.; JORDÀ, R. C. The composition, active components and bacteriostatic activity of propolis in dietetics. **J Am Oil Chem Soc**, Champaign, v. 71, n. 5, p. 529-532. May 1994.
 - 22 BORRELLI, F. et al. Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. **Fitoterapia**, Milão, v. 73, p. 53-63, Nov. 2002. Supplement 1.
 - 23 BORTOLUZZI, E. A. **Avaliação da reação do tecido subcutâneo de ratos à implantação dos cimentos MTA e Portland brancos acrescidos de radiopacificadores**. 2005 175p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
 - 24 BRETZ, W. A. et al. Preliminary report on the effects of propolis on wound healing in the dental pulp **Z Naturforsch**, Tübingen v. 53, n. 11/12, Nov./Dec., p. 1045-1048, 1998.
 - 25 BRUNINI, S. H. S. **Avaliação da intensidade da reação do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos frente ao implante dos cimentos endodônticos Endométhasone, Sealer 26 e AH Plus. Teste edemogênico e análise microscópica**. Bauru, 2003. 82p. Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
 - 26 BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (própolis). **Food Chem Toxicol**, Oxford, v. 36, n. 4, p. 347-363, Apr. 1998.
 - 27 CARDOSO, C. L. et al. Esterilização rápida de cones de gutta-percha por glutaraldeído. **Rev. APCD**, São Paulo, v. 51, n. 5, p. 425-431, Out. 1997.

- 28 CATANZARO- GUIMARÃES, S. A.; PERCINOTO, C. Effect of some endodontic materials on the influx of macrophages and multinucleated giant cell development in experimental granulomas. **J Endod**, Chicago, v. 10, n. 3, p. 101-104, Mar. 1984.
- 29 COSTA, C. A. S. Testes de biocompatibilidade dos materiais odontológicos. In: ESTRELA, C. **Metodologia científica**. São Paulo: Artes Médicas; 2001. Cap. 10 p. 462.
- 30 CRANE, D. L. et al. Biological and physical properties of an experimental root canal sealer without eugenol. **J Endod**, Chicago, v. 6, n. 2, p. 438-445, Feb. 1980.
- 31 DOBROWOLSKI, J. W. et al. Antibacterial, antifungal, antiamoebic, anti-inflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. **J Ethnopharmacol**, Lausanne, v. 35, n. 1, p. 77-82, Oct. 1991.
- 32 ECONOMIDES, N. et al. Experimental study of the biocompatibility of four root canal sealers and their influence on the zinc and calcium content of several tissues. **J Endod**, Chicago, v. 21, n. 3, p. 122-7, Mar. 1995.
- 33 ERAUSQUIN, J. Periapical tissue reaction to canal fillings with zinc, titanium, lead, and aluminum oxides. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v. 30, n. 4, p. 545-554, Oct. 1970.
- 34 ERSEV, H. et al. Cytotoxic and mutagenic potencies of various root canal filling materials in eukaryotic and prokaryotic cells in vitro. **J Endod**, Chicago, v. 25, n. 5, p. 359-363, May 1999.
- 35 FIGUEIREDO, J. A. P. et al. The histological effects of four endodontic sealers implanted in the oral mucosa: sub mucous injection versus implanted in polyethylene tubes. **Int Endod J**, Oxford, v. 34, n. 5, p. 377-385, July 2001.
- 36 FOCHT, J. et al. Bactericidal effect of propolis in vitro against agents causing upper respiratory tract infections. **Arzneimittelforschung**, Aulendorf, v. 43, n. 2, p. 809-936, Aug. 1993.
- 37 FRANCO, T. T.; KUBERAYASHI, A. K. Isolamento de princípios ativos

- da própolis por cromatografia em papel bidimensional e doseamento espectrofotométrico. **Rev Inst Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 46, n. 1/2, p. 809-936, ago. 1986.
- 38 FUENTES, A. M. O.; HERNÁNDEZ, N. R. Accion antimicrobiana de los extractos alcoholicos de propoleo. **Rev Cubana Farm**, Cuba, v. 24, n. 1, p. 34-44, ene./abr., 1993.
- 39 GEROSA, R. et al. Cytotoxicity evaluation of six root canal sealers. **J Endod**, Chicago, v. 21, n. 9, p. 446-448, Sept. 1995.
- 40 GHISALBERT, E. L. Propolis: a review. **Bee Word**, Nedlands, v. 60, n. 2, p. 59-83, 1979.
- 41 GLASS, R. L.; ZANDER, H. A. Pulp healing. **J Dent Res**, Alexandria, v. 28, n. 2, p. 97-107, April 1949.
- 42 GOMES, B. P. F. A. et al. *In vitro* antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 34, p. 424-428, Sep. 2001.
- 43 GONÇALVES, S. B. **Avaliação in vitro da capacidade seladora do Super-EBA e do MTA em quatro técnicas de obturação retrógrada**. Bauru, 2002. 130p. Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
- 44 GREGÓRIO, L. E. **Influência da sazonalidade na composição polínica, no perfil químico e na atividade antimicrobiana da própolis produzida em Cajuru – SP**. Ribeirão Preto, 2003. 174p. Dissertação – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- 45 GULATI, N. et al Cytotoxicity of eugenol in sealer containing zinc-oxide. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v. 7, n. 4, p. 181-185, Aug. 1991.
- 46 HERNANDEZ, N. M. R.; BERNAL, K. C. Efecto antibiótico Del propoleo frente a cepas de *staphylococcus aureus* de origem clinico humano. **Rev Cubana Farm**, Cuba, v. 24, n. 1, p. 45-50, ene-abr 1990.

- 47 HOLLAND, R. et al. Comportamento do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante de tubos de polietileno preenchidos parcial ou totalmente com alguns materiais obturadores de canais. **Rev Bras Odontol**, Rio de Janeiro, v., 28, n.171, p. 197-201, set./out. 1971.
- 48 HOLLAND, R. et al Resposta do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante de alguns materiais obturadores de canais. **Rev Fac Odont Araçatuba**, Araçatuba, v. 2, n. 2, p. 217-35, jul./dez. 1973.
- 49 HOLLAND, R. et al **Endodontia Manual**. 2000.
- 50 HOLLAND, R. et al. Calcium salts deposition in rat connective tissue after the implantation of calcium hydroxide containing sealers. **J Endod**, Chicago, v. 28, n. 3, p. 173-176, Mar. 2002.
- 51 HUANG, F. M. et al. Cytotoxicity of resin, zinc oxide eugenol, and calcium hydroxide based root canal sealers on human periodontal ligament cells and permanent V79 cells. **Int Endod J**, Oxford, v. 35, n. 2, p. 153-158, Feb. 2002.
- 52 JOU, Y.; PERTL, C. Is there a best retrograde filling material? **Dent Clin North Amer**, Philadelphia, v. 41, n. 3, p. 555-561, July 1997.
- 53 KEDZIA, B.; GEPPERT, B.; IWASZKIEWICZ, J. Pharmacological investigations of ethanolic extract of propolis. **Rev Phytotherapie pratique**, Strasbourg, v. 4, n. 6, p. 7-9, 1990.
- 54 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**, Chicago, v. 24, n. 2, p. 82-5, Feb. 1998.
- 55 LEAL, J. M.; HOLLAND, R.; ESBERARD, R. M. Sealapex, CRCS, Fill Canal, N-Rickert: estudo da biocompatibilidade em tecido conjuntivo subcutâneo do rato. **Odontol Clin**, Araraquara, v. 2, p. 7-14, 1988.
- 56 LEONARDO, M. R. et al. Calcium hydroxide root canal sealer – histopathologic evaluation of apical and periapical repair after endodontic treatment. **J Endod**, Chicago, v. 23, n. 7, p. 428-432, July 1997.
- 57 LEONARDO, R. T. et al Evaluation of cell culture cytotoxicity of five root

- canal sealers. **J Endod**, Chicago, v. 26, n. 6, p. 328-330, Jun. 2000.
- 58 LINDELFELSER, L. A. Antimicrobial activity of propolis. **American Bee J**, Hamilton, v. 107, n. 3, p. 90-92, Mar. 1967.
- 59 LINDELFELSER, L. A. Antimicrobial activity of propolis. **American Bee J**, Hamilton, v. 107, n.4, p. 130-131, Apr. 1967.
- 60 LOTUFO, M. A. **Análise da citotoxicidade in vitro da solução de própolis em propilenoglicol**. São Paulo, 2003. 73p. Tese (Dorutorado) – Faculdade de Odontologia de São Paulo Bauru, Universidade de São Paulo.
- 61 MAGRO FILHO, O. et al. Reações do tecido conjuntivo à pomada de confrei, própolis e mel – estudo histológico em ratos. **Rev Bras Odont**, Rio de Janeiro, v. 44, n. 5, p. 44-48, set.-out. 1987.
- 62 MAGRO FILHO, O.; CARVALHO, A. C. P. Application of propolis to dental sockets and skin wounds. **J Nihon Univ Sch Dent**, Tokyo, v. 32, n. 4, p. 4-10, Mar. 1990.
- 63 MAHMOUD, A. S.; ALMAS, K.; DAHLAN, A. A. The effect of propolis on dentinal hypersensitivity and level of satisfaction among patients from a university hospital Riyadh, Saudi Arabia. **Indian J Dent Res**, Ahmedabad, v. 10, n. 4, p. 130-137, Oct.-Dec 1999.
- 64 MANARA, L. R. B. et al. Utilização da própolis em odontologia. **Rev Fac Odontol Bauru**, Bauru, v. 7, n. 3/4, p. 15-20, jul./dez. 1999.
- 65 MARCUCCI, M. C. Própolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity **Apidologie**, Avignon, v. 26, n. 2, p. 83-99 1995.
- 66 MARCUCCI, M. C. **Processo de identificação da própolis brasileira**. Detentora: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e inventora Maria Cristina Marcucci Ribeiro, Patente requerida, 2000.
- 67 MARCUCCI, M.C. et al. Phenolic compounds from brazilian propolis with pharmacological activities, **J. Ethnopharmacol**, Lausanne, v.74, n. 2, p.105-112, Feb. 2001.

- 68 MARQUES, J. G.; GALVÃO, V. G. O uso da própolis em Periodontia. **UFES Rev Odontol**, Vitória, v. 5, n. 1, p. 54-56, jan./abr. 2003.
- 69 MARTIM, M. P.; PILEGGI, R. A quantitative analysis of própolis: a promising new media following avulsion. **Dent Traumatol**, Chape Hill, v. 20, n. 2, p. 85-89, Apr. 2004.
- 70 MAURÍCIO, C. V. et al. Estudo histomorfológico do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante de pastas à base de Ca(OH)_2 contidas em tubos de dentina humana. **Rev Odont UNESP**, v. 15/16, p. 23-38, 1986/1987.
- 71 MAZUQUELI, L. et al. Influência do veículo na resposta dos tecidos apicais e periapicais de dentes de cães à obturação de canais com MTA em dois níveis diferentes. In: **XIX Jornada de Odontologia de Bauru**, Bauru 2006, Anais, Bauru (no prelo).
- 72 MENEZES, H.; ALVAREZ, J. M.; ALMEIDA, E. Mouse ear edema modulation by different propolis ethanol extracts **Arzneimittelforschung**, Aulendorf, v. 48, n. 8, p. 705-707, Aug. 1999.
- 73 MILLER, A. F.; LILENBAUM, W. Própolis: avaliação da ação antibacteriana in vitro. **Ciências Médicas, Universidade Federal Fluminense**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 1/2, p. 29-33, jan./dez. 1988.
- 74 MIORIN, P. L. et al. Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus* **J Appl Microbiol**, Oxford, v. 95, n. 5, p. 913-920, Nov. 2003.
- 75 MIRZOEVA, O. K.; CALDER, P. C. The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, Edinburgh, v. 55, n. 6, p. 441-449, Dec. 1996.
- 76 MITTAL, M.; CHANDRA, S.; CHANDRA, S. Comparative tissue toxicity evaluation of four endodontic sealer. **J Endod**, Chicago, v. 21, n. 12, p. 622-624, Dec. 1995.
- 77 MONTPIED, B. F. et al Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) prevents

- inflammatory stress in organotypic hippocampal slice cultures. **Brain Res Mol Brain Res**, La Jolla, v. 115, n. 2, p. 111-20, Jul. 2003.
- 78 MORAES, I. G. **Infiltração marginal nas obturações de canais radiculares em função de agentes irrigadores e cimentos obturadores**. Bauru, 1981. 114p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
- 79 MURATA, R. M. et al. Potencial antimicrobiano da própolis de regiões brasileiras contra microorganismos periodontopatogênicos. **Pesqu Odontol Bras**, São Paulo, v. 16, p. 183, 2002. Suplemento. / Abst. n. Pb115/.
- 80 MURRAY, M. C.; WORTHINGTON, H. V.; BLINKHORN, A. S. A study to investigate the effect of a propolis containing mouthrinse on the inhibition of de novo plaque formation. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 24, n. 11, p. 796-798, Nov. 1997.
- 81 OLSSON, B. O.; SLIWKWSKI, A.; LANGE LAND, K. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. **J Endod**, Chicago, v. 7, n. 8, p. 355-369, Aug. 1981.
- 82 ORSTAVIK, D.; MJÖR, I. A. Histopathology and X-ray microanalysis of the subcutaneous tissue response to endodontic sealers. **J Endod**, Chicago, v. 14, n. 1, p. 13-23, Jan. 1988.
- 83 ORSTAVIK, D.; MJÖR, I. A. Usage test of four endodontic sealer in macaca fascicularis monkeys. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v. 73, n. 3, p. 337-344, Mar. 1992.
- 84 OZTURK, F. et al. The effect of propolis extractin experimental chemical corneal injury. **Ophthalmic Res**, Basel, v. 32, n. 1, p. 13-18, Jan./Feb. 2000.
- 85 PARK, Y. K. et al. Comparison of the flavonoid aglycone contents of Apis mellifera propolis from various regions of Brazil. **Arq Biol Tecnol**, Curitiba, v. 40, n. 1, p. 97-106, Mar. 1997.
- 86 PASCON, E. A. et al. Tissue reaction to endodontic materials: methods,

- criteria, assessment, and observations. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v. 72, n. 2, p. 222-37, Aug. 1991.
- 87 PERASSI, F. P. **Resposta tecidual ao cimento resinoso endorez e um cimento experimental derivado do polímero de mamona comparados ao endofill e sealapex. Estudo morfológico.** Araraquara, 2004. 115p. Tese (Doutorado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista.
- 88 PERUCHI, C. M. et al. Efecto del propoleos en la cicatrización de lesiones subcutáneas inducidas en el dorso de ratones, estudio histológico. **Rev Fac Odont Univ Chile**, Santiago, v. 19, n. 2, p. 23-34, jul./dic. 2001.
- 89 PINHEIRO, S. L.; SIMIONATO, M. R. L.; ODA, M. Atividade antimicrobiana in vitro de cimentos de ionômero de vidro associados a própolis ou antibióticos. **Rev APCD**, São Paulo, v. 57, n. 3, p. 215-219, mai./jun. 2003.
- 90 SACOMANI, G. R. R. et al Comportamento dos tecidos periapicais de dentes de cães após a obturação de canal com os cimentos Sealer 26 e Sealer 26 modificado. **J Bras Endo**, Curitiba, v. 2, n. 5, p. 145-152, abr./jun. 2001.
- 91 SANTOS, M. C. et al. Inhibition of human pulpal gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by zinc oxide cements. **J Oral Rehabil**, Oxford, v. 31, n. 7, p. 660-664, July 2004.
- 92 SAUDÁVEL e natural **Pesq FAPESP**, São Paulo, n. 69, p. 55-57, out. 2001.
- 93 SCHELLER, S. et al. Biological properties and clinical application of propolis. VI Investigation of the influence of ethanol extracts of propolis (EEP) on cartilaginous tissue regenerations **Arzneimittelforschung**, Aulendorf, v. 27, n. 2, p. 2138-2140, 1977.

-
- 94 SCHELLER, S. et al. Biological properties and clinical application of propolis. IX Experimental observation on the influence of ethanol extracts of propolis (EEP) on dental pulp regeneration **Arzneimittelforschung**, Aulendorf, v. 28, n. 1, p. 289-291, 1978.
- 95 SHORT, R. D. et al. The crystallization of sodium hypochlorite on gutta-percha cones after the rapid-sterilization technique: an SEM study. **J. Endod.**, Chicago, v. 29, n. 10, p. 670-673, Oct. 2003.
- 96 SILVA, L. A. et al. Inflammatory response to calcium hydroxide based root canal sealers. **J Endod**, Chicago, v. 23, n. 2, p. 86-90, Feb. 1997.
- 97 SILVEIRA, G. M. et al. Estudio preliminar sobre los efectos del propolan en el tratamiento de la gingivitis crônica y de las úlceras bucales. **Rev Cubana Estomatol**, Cuba, v. 25, n. 3, p. 33-44, sep./dic. 1988.
- 98 SOARES, I. et al. Periapical tissue response to two calcium hydroxide-containing endodontic sealers. **J Endod**, Chicago, v. 16, n 4, p. 166-169, Apr. 1990.
- 99 SONG, Y.S et al. Inhibition of angiogenesis by propolis. **Arch Pharm Res**, Seoul, v. 25, n. 4, p. 500-504, Aug. 2002.
- 100 STANLEY, H. R. Biological evaluation of dental materials. **Int Dent J**, London, v. 42, n. 1, p. 37-46, Feb. 1992.
- 101 STOJKO, S. et al. Biological properties and clinical application of propolis. VII Experimental observation on the influence of ethanol extracts of propolis (EEP) on the regeneration of bone tissue **Arzneimittelforschung**, Aulengorf, v. 28, n. 1, p. 35-37, 1978.
- 102 SUZUKI, P. et al. Reação dos tecidos periapicais de cães à obturação de canais radiculares com os cimentos EndoReze Endométhasone em dois limites?. In: **XIX Jornada de Odontologia de Bauru**, Bauru 2006, Anais, Bauru (no prelo).
- 103 SZEWCZAK, E. H.; GODOY, G. F. Um estudo científico sobre a própolis: estudo comparativo entre a sensibilidade de *Staphylococcus aureus* à própolis e a antibióticos. **Apic Bras**, v. 1, n. 3, p. 28-29, jul./ago. 1984.

- 104 TANOMARU FILHO, M. et al. Biocompatibilidade de materiais utilizados em obturações retrógradas após implantes intra-ósseo em rato. **Braz Oral Res**, São Paulo, v. 19, p. 15, Sept. 2005. Supplement. Abstract n. Ic 040.
- 105 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**, Saint Louis, v, 122, n. 1, p.,127-132, July 2006.
- 106 TATEFUJI, T. Isolation and compounds from brazilian propolis wich enhance macrophage spreading and mobility. **Biol Pharm Bull**, Tokyo, v. 19, n. 7, p. 966-970, July 1996.
- 107 TRUSHEVA, B. B. et al. Bioactive constituents of brazilian red propolis, e-CAM: Evidence based complementary and alternative medicine. |No prelo 2006|.
- 108 VALERA, M. C. **Estudo da compatibilidade biológica de alguns cimentos endodônticos à base de hidróxido de cálcio e um cimentos de ionômero de vidro. Avaliação do selamento marginal apical e análise morfológica por microscopia de força anatômica.** Araraquara, 1995. 333p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP.
- 109 WENNERBERG, A. Tissue compatibility of endodontic sealers. **J Dent Res**, Alexandria v. 68, p. 1009 1989. Special issue. (Abstract n. 1142)
- 110 WOISKY, R. G.; GIESBRECHT, A. M.; SALATINO, A. Atividade antibacteriana de uma formulação preparada a partir de própolis de *Apis mellifera* L. **Rev Farm Bioquím Univ S Paulo**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 19-21, jan./jun. 1994.
- 111 YESIOLSOY, C. et al. A comparative tissue toxicity evaluation of established and newer root canal sealers. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, v. 65, n. 4, p. 459-467, Apr. 1988.
- 112 ZMENER, O.; GUGLIELMOTTI, M. B.; CABRINI, R. L. Tissue response

to an experimental calcium hydroxide based endodontic Sealer: a quantitative study in subcutaneous connective tissue of rats. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen, v. 6, n. 2, p. 66-671, Apr. 1990.

ABSTRACT:

“Sealer 26 and zinc-oxide-eugenol sealer biocompatibility either sheltered or not with two different sorts of propolis. Rat subcutaneous tissue analyzes”.

This research aims to evaluate the intensity of inflammatory reaction in conjunctive subcutaneous tissue of rats to the sealer 26 and zinc-oxide-eugenol either sheltered or not with two different sorts of propolis. Two incisions were performed in 39 rats after anesthesia and trichotomy of the dorsal region. Three polyethylene tubes were implanted within five centimeters from each other. Fifty-four tubes were filled with zinc-oxide-eugenol sealer consistently. Thirty-six out of these fifty-four tubes were also spread with propolis in their borders sheltering the sealer area. The BRP1 propolis was sheltered in eighteen of them and MAR propolis was spread on the remaining tubes. The other tubes were not spread on their borders. Other fifty-four tubes were also filled with Sealer 26 consistently. Like the other group, thirty-six tubes were covered with propolis in their borders where half BRP1 propolis was used and the remaining tubes were covered with MAR propolis. The other eighteen tubes were not spread on their borders. The experimental periods were 7, 30 and 60 days with thirteen animals in each period which twelve animals had three tubes with experimental materials and one animal had four tubes which two tubes were filled with gutta-percha and two empty tubes considered as a control group. After the animals' death, biopsy was performed removing the tubes. The tissues were prepared histologically and after obtaining the cut off, these were analyzed to the microscopic events specifying score. The application of propolis covering the sealers did not change their behavior. MAR propolis showed better results than the BRP1 propolis, notwithstanding they showed no statistic significant difference. Zinc-oxide-eugenol showed a better biologic behavior than Sealer 26. Both sealers behaved better when kept in the tubes than then they spilled out.

Keywords: Endontics, Propolis, Biocompatibility test.

APÉNDICE

Universidade de São Paulo Faculdade de Odontologia de Bauru

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

Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

CEEPA-Proc. Nº 08/2004

Bauru, 28 de agosto de 2006.

Senhor Professor,

Em atenção a solicitação de V.S^a para alteração do título do trabalho de pesquisa “Análise comparativa da biocompatibilidade dos cimentos Sealer 26 e de um cimento à base de óxido de zinco e eugenol com ou sem uma camada protetora de própolis em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos” de autoria de Fernanda Gomes de Moraes, sob sua orientação e co-orientação da Prof^a Dr^a Maria Cristina Marcucci, para “**Biocompatibilidade dos cimentos Sealer 26 e de óxido de zinco e eugenol protegidos ou não com dois diferentes tipos de própolis. Análise em tecido subcutâneo de ratos**” esta Comissão emitiu parecer favorável, “ad referendum”, nesta data, considerando não haver infrações éticas.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Luis Antônio de Assis Taveira
Vice-Presidente da Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

Ilm^o Sr. **Prof. Dr. Clovis Monteiro Bramante**
DD. Docente do Departamento de Dentística, endodontia e Materiais Dentários