RAMIRO MARCELO ORTÍZ-OROPEZA

**Avaliação microscópica da resposta do tecido subcutâneo de
ratos à implantação do Endo-CPM-Sealer e do Clínquer do
cimento Portland cinza puro e acrescido com sulfato de cálcio
a 2% e 5%.**

Dissertação apresentada à Faculdade
de Odontologia de Bauru da
Universidade de São Paulo para
obtenção do título de mestre em
Odontologia

Área de Concentração: Endodontia
Orientador: Prof. Dr. Clovis Monteiro
Bramante

**BAURU
2007**

Ortíz-Oropeza, Ramiro Marcelo

Or9a Avaliação microscópica da resposta do tecido subcutâneo de ratos à implantação do Endo-CPM-Sealer e do Clínquer do cimento Portland puro e acrescido com sulfato de cálcio a 2% e 5% / Ramiro Marcelo Ortíz-Oropeza - Bauru, 2007.

219 p.: il. ; 30 cm.

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

Orientador: Prof. Dr. Clovis Monteiro Bramante

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

Assinatura:

Data: 11/07/2007

Comitê de Ética da FOB-USP
Protocolo nº: 02/2006
Data: 03/04/2006

RAMIRO MARCELO ORTÍZ-OROPEZA

Nascimento	13 de Fevereiro de 1980, em Santa Cruz de la Sierra, Bolivia
Filiação	Ramiro Ortiz Torricos e Sonia Oropeza Dominguez de Ortiz
1998 – 2002	Curso de Graduação em Odontologia na Universidade Cristiana da Bolivia
2003	Curso de Aperfeiçoamento em Endodontia no Centro de Pós-Grado Odontológico do Colégio de Odontólogos da Bolivia, Regional Santa Cruz
2004	Professor Convidado do Curso de Aperfeiçoamento em Endodontia no Centro de Pós-Grado Odontológico do Colégio de Odontólogos da Bolivia e na Escola de Pós- Grado na Universidade Cristiana da Bolivia
2006	Curso de Aperfeiçoamento em Implantes na Clínica Via Oral, Bauru - SP
2005 – 2007	Curso de Pós-graduação em nível de Mestrado em Odontologia, área de concentração em Endodontia, na Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo
Associação	Colégio de Odontólogos da Bolivia

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, **Ramiro** e **Sonia**, que sempre deram tudo deles para educar da melhor forma possível aos meus irmãos e a mim. Obrigado pela colaboração, formação e orientação que vocês me deram no decorrer da vida; pelo incentivo, apoio e esforço realizado por vocês durante este período da minha vida em Bauru, sem vocês tudo teria sido muito mais difícil. Sou muito grato pela família que Deus me deu. Obrigado de coração...*

*À **Carla**, minha companheira... A pessoa que conheci, namorei e com a qual me casei neste período do mestrado. Obrigado pelo apoio e a compreensão nos momentos difíceis que passamos juntos; pela paciência, incentivo, força e, principalmente pelo amor, carinho, compreensão e respeito. Obrigado por ter estado no meu lado em todos os momentos bons e difíceis. Eu te amo muito...*

AGRADECIMENTO ESPECIAL

*Ao meu orientador **Prof. Dr. Clovis Monteiro Bramante**, pela confiança depositada em mim para enfrentar este desafio; pela orientação e apoio na execução deste trabalho; pelos ensinamentos que me transmitiu neste período, que com certeza vão seguir sendo transmitidos pela Bolívia.*

Muito obrigado...

AGRADECIMENTOS

*Em primeiro lugar a **DEUS**, por ter me dado a oportunidade de estar no mundo e ter me conduzido até aqui; por ter me dado uma família de exemplo e uma brilhante esposa; Obrigado pela força e coragem nesta caminhada...*

*Aos meus irmãos, **Juan Pablo, Maria Elena, Sonia e Luis Fernando**, que sempre estiveram preocupados por mim, obrigado pela amizade e carinho.*

*À família **Vargas Barral**, pela paciência, colaboração e força. Sobretudo por ter deixado à Carla ficar no meu lado nestes dias que precisei tanto dela. Muito obrigado...*

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

*Ao **Prof. Gerson Francisco de Assis** pela orientação dada para a avaliação microscópica e interpretação dos resultados deste estudo; e pela atenção em todos os momentos que precisei. Obrigado...*

*Aos professores da disciplina da Endodontia da FOB - USP:
Prof. Dr. Ivaldo Gomes de Moraes, Prof. Dr. Roberto*

Brandão Garcia e Prof. Dr. Norberti Bernardineli. *Pela amizade e atenção prestada na minha pessoa; obrigado pelos ensinamentos que recebi neste tempo juntos.*

A todos os professores do curso de mestrado da FOB-USP, pela contribuição neste período.

Ao Prof. Dr. Celso Kenji Nishiyama e a sua família, principalmente pela amizade desinteressada. Obrigado por toda a colaboração que vocês me deram desde o primeiro dia que cheguei a Bauru e por ter me acolhido na sua casa, quando não conhecia ninguém. Muito obrigado...

Aos funcionários da disciplina de Endodontia: D. Neide, Edimauro, e Patrícia, por toda a colaboração e ajuda neste tempo, especialmente à Suely pela revisão do texto desta dissertação. Obrigado a todos vocês...

A todos os professores e funcionários da disciplina de Histologia, pela atenção recebida nos momentos que precisei, principalmente à Daniele Santi Ceolin, pela ajuda no processamento das lâminas histológicas e à Tânia Mary Cestari, pela paciência e orientação na interpretação dos resultados deste estudo. Obrigado pelo tempo que me disponibilizaram e principalmente pelo empenho e dedicação, sabendo que tinham outras coisas importantes a fazer.

*Ao **Prof. Dr. José Roberto Pereira Lauris**, da disciplina de Saúde Coletiva, pela ajuda na análise estatística.*

*Ao **professor de português Valdir Afonso**, pela revisão do texto desta dissertação.*

*Aos **amigos “gringos”**: **Claudia, Dafna, Daniel, Javier, Juan, Valeria e Vladimir**, por ter diminuído a dor de ficar longe de casa; sei que a nossa companhia, dissimulava aquela falta; e a todos os **amigos brasileiros** que fiz nesta passagem por Bauru, especialmente ao **Nicolas e a sua família**, muito obrigado pelas atenções, carinho e amizade. Com certeza que no dia que eu retornar para Bolívia, levarei comigo, lembranças inesquecíveis dos bons momentos que compartilhamos juntos. Obrigado...*

*Aos meus companheiros do mestrado: **Bruno, Carla, Clarice, Márcia, Patrícia, Roberta e Ronan** pela convivência e troca de conhecimentos e experiência que tivemos e pela amizade recebida. Em especial ao **Fernando**, que sempre esteve disponível quando precisei da sua ajuda.*

E a todas as pessoas que, contribuíram de forma direta ou indireta na elaboração deste trabalho. Muito obrigado a todos vocês...

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

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

À Comissão de Pós-graduação, representada hoje, pela Prof. Dra. Maria Aparecida de Andrade Moreira.

Aos funcionários da secretaria de Pós-graduação, pela colaboração prestada desde os primeiros dias do mestrado, muito obrigado.

*Ao setor **Biblioteca e Documentação da FOB-USP**, pelo apoio e colaboração durante o período do mestrado.*

*Ao setor **Financeiro da FOB-USP**, pela aquisição de todos os materiais necessários para a realização deste trabalho.*

*Ao **Programa de Aperfeiçoamento de Ensino (PAE)**, pelo apoio financeiro.*

RESUMO

Ao longo dos últimos anos, têm sido expressivo o interesse pelo estudo do Agregado de Trióxido Mineral (MTA) devido às boas propriedades físico-químicas e biológicas que apresenta. Da mesma forma houve um grande interesse no cimento Portland, já que, segundo os trabalhos científicos encontrados na literatura, apresentam composição e desempenho semelhantes. Este trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento biológico do Endo-CPM-Sealer e do clínquer do cimento Portland puro e acrescido com sulfato de cálcio (com 2% e 5% do seu peso total) no tecido subcutâneo de ratos, para analisar as possíveis alterações teciduais que possam induzir. Também foi avaliado o tempo de presa dos quatro cimentos. Empregaram-se 24 ratos machos da linhagem Wistar, divididos em três grupos para cada período experimental (15, 30 e 60 dias). Cada animal recebeu quatro tubos de polietileno (preenchidos com os cimentos experimentais e selados numa das extremidades com guta-percha que serviu como controle) no tecido subcutâneo da região dorsal. Decorridos os períodos experimentais, os animais foram mortos e os tubos foram removidos com tecido adjacente suficiente para análise microscópica. Os resultados mostraram que o Endo-CPM-Sealer, produziu a maior resposta inflamatória nos períodos de 15 e 60 dias, sendo estatisticamente significativa somente no primeiro período. O clínquer do cimento Portland puro, foi o que produziu a menor resposta tecidual inflamatória, em todos os períodos. Todos os materiais avaliados apresentaram-se semelhantes no período de 60 dias e não apresentaram diferença estatisticamente significativa. Com relação ao tempo de presa inicial, o clínquer do cimento Portland puro, foi o que apresentou o menor valor (5min), e o menor valor do tempo de presa final foi dado pelo Endo-CPM-Sealer (22min), seguido pelo clínquer do cimento Portland puro (55min).

Palavras chaves: Endodontia, Agregado de Trióxido Mineral, cimento Portland.

ABSTRACT

Microscopic evaluation of the response of subcutaneous tissue of rats to implantation of Endo-CPM-Sealer and clinker of grey Portland cement, pure or combined with 2% and 5% calcium sulfate.

During the last years, there has been considerable interest in the investigation of Mineral Trioxide Aggregate (MTA), due to its good physicochemical and biological properties. Similarly, there was great interest in Portland cement, since scientific studies in the literature reveal that these materials present similar composition and performance. This study aimed to evaluate the biological behavior of Endo-CPM-Sealer and clinker of Portland cement, either pure or combined with calcium sulfate (2% and 5% of the total weight), by implantation in subcutaneous tissue of rats, to analyze the possible tissue alterations that may be induced. The setting time of the four cements were also evaluated. The study was conducted on 24 male Wistar rats, divided into 3 groups for each study period (15, 30 and 60 days). Each animal underwent placement of four polyethylene tubes (filled with the experimental materials and sealed with gutta-percha at one end, which served as control) in the subcutaneous tissue at the dorsal region. After the study periods, the animals were killed and the tubes were removed with enough surrounding tissue for microscopic analysis. The results demonstrated that Endo-CPM-Sealer caused greatest inflammatory response at 15 and 60 days, with a statistically significant difference only on the first period. Pure clinker of Portland cement produced the least inflammatory response at all periods. All materials were similar at 60 days, without statistically significant difference. Concerning the initial setting time, pure clinker of Portland cement exhibited the shortest time (5min); the shortest final setting time was observed for Endo-CPM-Sealer (22min), followed by pure clinker of Portland cement (55min).

Key words: Endodontics. Mineral Trioxide Aggregate. Portland cement.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURAS

	pág.
Figura 1- Endo-CPM-Sealer (pó e líquido).....	95
Figura 2 - Clínquer do cimento Portland cinza (pó).....	95
Figura 3 - Clínquer do cimento Portland (esferas).....	95
Figura 4 - Pó do clínquer do cimento Portland cinza moído e peneirado....	95
Figura 5 - Clínquer do cimento Portland acrescido com 2% de sulfato de cálcio (pó).....	95
Figura 6 - Clínquer do cimento Portland acrescido com 5% de sulfato de cálcio (pó).....	95
Figura 7 - Tubos de polietileno, fechados numa das extremidades com guta-percha.....	95
Figura 8a - Trocarte utilizado para a colocação dos tubos de polietileno no tecido subcutâneo dos ratos.....	99
Figura 8b - Colocação do tubo de polietileno na ponta do trocarte.....	99
Figura 9 - Introdução dos tubos de polietileno no tecido subcutâneo dos ratos.....	99
Figura 10 - Implantação dos tubos de polietileno no tecido subcutâneo dos ratos.....	99
Figura 11 - Esquema da distribuição dos implantes de tubos de polietileno nos ratos.....	99
Figura 12 - Localização dos implantes por meio da palpação.....	103
Figura 13 - Dissecção das áreas dos implantes.....	103
Figura 14 - Amostra com tecido suficiente para análise microscópica.....	103
Figura 15 - Corte longitudinal na cápsula do tubo para a eliminação do tubo de polietileno.....	103
Figura 16 - Eliminação do tubo de polietileno da cápsula fibrosa.....	103
Figura 17 - Esquema de casualização dos campos microscópicos.....	107

Figura 18 -	Gratículo de integração II Zeiss sobre a imagem de um corte histológico.....	109
Figura 19 -	Crítérios morfológicos utilizados para a contagem morfométrica em cortes de tecidos corados pela HE.....	111
Figura 20 -	Anel metálico empregado para a determinação do tempo de presa.....	113
Figura 21 -	Agulha de Guillmore de 113,5 gramas.....	113
Figura 22 -	Agulha de Guillmore de 456,5 gramas.....	113
Figura 23 -	Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Endo-CPM-Sealer aos 15 dias.....	121
Figura 24 -	Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Endo-CPM-Sealer aos 15 dias.....	121
Figura 25 -	Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo clínquer puro aos 15 dias.....	123
Figura 26 -	Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo clínquer puro aos 15 dias.....	123
Figura 27 -	Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio aos 15 dias.....	125
Figura 28 -	Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio aos 15 dias....	125
Figura 29 -	Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio aos 15 dias....	127
Figura 30 -	Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pela gutapercha (grupo controle) aos 15 dias.....	127
Figura 31 -	Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Endo-CPM-Sealer aos 30 dias.....	131
Figura 32 -	Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Endo-CPM-Sealer aos 30 dias.....	131
Figura 33 -	Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo clínquer puro aos 30 dias.....	133
Figura 34 -	Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio aos 30 dias....	133

Figura 35 - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio aos 30 dias....	135
Figura 36 - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pela gutapercha (grupo controle) aos 30 dias.....	135
Figura 37 - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo Endo-CPM-Sealer aos 60 dias.....	139
Figura 38 - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo clínquer puro aos 60 dias.....	139
Figura 39 - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio aos 60 dias....	141
Figura 40 - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pelo clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio aos 60 dias....	141
Figura 41 - Aspectos microscópicos da reação tecidual produzida pela gutapercha (grupo controle) aos 60 dias.....	143

- GRÁFICOS

Gráfico 1 - Densidade de volume (%) das fibras colágenas encontradas no tecido conjuntivo reacional adjacente a superfície do material implantado.....	147
Gráfico 2 - Densidade de volume (%) dos fibroblastos encontrados no tecido conjuntivo reacional adjacente a superfície do material implantado.....	149
Gráfico 3 - Densidade de volume (%) das células inflamatórias encontradas no tecido conjuntivo reacional adjacente a superfície do material implantado.....	151
Gráfico 4 - Densidade de volume (%) dos vasos sangüíneos encontrados no tecido conjuntivo reacional adjacente a superfície do material implantado.....	153
Gráfico 5 - Densidade de volume (%) dos outros componentes encontrados no tecido conjuntivo reacional adjacente a superfície do material implantado.....	155

LISTA DE TABELAS

	pág.
Tabela 1 - Distribuição dos implantes em relação aos materiais e períodos empregados no experimento.....	97
Tabela 2 - Média e desvio padrão da média da densidade de volume (%) de fibras, fibroblastos, células inflamatórias, vasos sangüíneos e de outros componentes encontrados no tecido conjuntivo reacional adjacente a superfície do material implantado.....	145
Tabela 3 - Médias dos tempos de presa iniciais e finais dos cimentos avaliados.....	160

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

m -	Metros
cm -	Centímetro
mm -	Milímetro
ml -	Mililitro
µm -	Micrômetro
Kg -	Kilograma
mg -	Miligrama
g -	Grama
ml/kg -	Mililitro por kilograma
mg/kg -	Miligrama por kilograma
mg/l -	Miligrama por litro
h -	Hora(s)
min -	Minuto(s)
seg -	Segundo(s)
nº -	Número
PMNs -	Polimorfonucleares neutrófilos
CGMIs -	Células gigantes multinucleadas
Ca(OH) ₂ -	Hidróxido de cálcio
ISO -	International Organization for Standardisation
ADA -	American Dental Association
FDI -	Fédération Dentaire Internationale
UI -	Unidades Internacionais
% -	Por cento
± -	Mais ou menos
X -	Fator de aumento
= -	Igual
°C -	Graus Celsius
pH -	Potencial hidrogeniônico
ppm -	Partes por milhão
Hg -	Mercúrio

H.E. -	Hematoxilina e Eosina
p -	Nível de significância
SEM -	Microscopia eletrônica de varredura
XPS -	Espectroscopia Fotoeletrônica de Raios-X
EDAX -	Análise de Energia Dispersiva de Raios-X
MTA -	Agregado Trióxido Mineral
IRM -	Material Restaurador Intermediário
EBA -	Cimento de óxido de zinco e eugenol
CPM -	Cimento Portland Modificado
EDTA -	Ácido etileno diaminotretacético
CIV -	Cimento de ionômero de vidro
BHI -	Brain Heart Infusion
CO ₂ -	Dióxido de carbono
O ₂ -	Oxigênio
Ltda. -	Limitada
CEEPA -	Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais
FOB -	Faculdade de Odontologia de Bauru
USP -	Universidade de São Paulo

SUMÁRIO

	pág.
1 INTRODUÇÃO	21
2 REVISÃO DA LITERATURA	27
2.1 Da implantação subcutânea	29
2.2 Sobre o MTA	35
2.3 Sobre o cimento Portland e as suas comparações com o MTA	66
2.4 Sobre o Endo-CPM-Sealer	83
3 PROPOSIÇÃO	85
4 MATERIAL E MÉTODOS	89
4.1 Material	91
4.2 Métodos	97
4.2.1 Da implantação subcutânea	97
4.2.2 Da determinação do tempo de presa	113
5 RESULTADOS	115
5.1 Da implantação subcutânea	117
5.1.1 Avaliação microscópica descritiva do tecido reacional adjacente à superfície do material implantado	117
5.1.1.1 No período de 15 dias	117
5.1.1.1.1 Endo-CPM-Sealer	117
5.1.1.1.2 Clínquer do cimento Portland puro	118
5.1.1.1.3 Clínquer do cimento Portland acrescido com 2% de sulfato de cálcio	118
5.1.1.1.4 Clínquer do cimento Portland acrescido com 5% de sulfato de cálcio	119
5.1.1.1.5 Guta-percha (controle)	119
5.1.1.2 No período de 30 dias	129
5.1.1.2.1 Endo-CPM-Sealer	129
5.1.1.2.2 Clínquer do cimento Portland puro	129

5.1.1.2.3 Clínquer do cimento Portland acrescido com 2% de sulfato de cálcio.....	130
5.1.1.2.4 Clínquer do cimento Portland acrescido com 5% de sulfato de cálcio.....	130
5.1.1.2.5 Guta-percha (controle).....	130
5.1.1.3 No período de 60 dias.	137
5.1.1.3.1 Endo-CPM-Sealer	137
5.1.1.3.2 Clínquer do cimento Portland puro.....	137
5.1.1.3.3 Clínquer do cimento Portland acrescido com 2% de sulfato de cálcio.....	137
5.1.1.3.4 Clínquer do cimento Portland acrescido com 5% de sulfato de cálcio.....	138
5.1.1.3.5 Guta-percha (controle).....	138
5.1.2 Avaliação morfométrica da densidade de volume (%) de fibras, fibroblastos, células inflamatórias, vasos sanguíneos e de outros componentes encontrados no tecido conjuntivo reacional.	143
5.2 Do tempo de presa.....	160
6 DISCUSSÃO.....	161
6.1 DA METODOLOGIA.....	163
6.1.1 Da implantação subcutânea.....	163
6.1.2 Da obtenção do tempo de presa.....	166
6.2 DOS MATERIAIS EMPREGADOS.....	166
6.2.1 A escolha do Endo-CPM-Sealer.....	166
6.2.2 A escolha do clínquer Cimento Portland	166
6.2.3 A escolha do controle (guta-percha).....	168
6.3 DOS RESULTADOS.....	169
6.3.1 Da implantação subcutânea.....	169
6.3.2 Do tempo de presa.....	176
7 CONCLUSÕES.....	179
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	183
APÊNDICE.....	207
ANEXO.....	217

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Diversos materiais têm sido recomendados nas cirurgias pararendodônticas como materiais retroobturadores e para selar as comunicações entre o sistema de canais radiculares e o periodonto. O Agregado de Trióxido Mineral (MTA) foi desenvolvido na Universidade de Loma Linda no início da década dos anos 90 e foi inicialmente desenvolvido como um material para selar perfurações dentais (LEE; MONSEF; TORABINEJAD⁹⁶, 1993; TORABINEJAD; WATSON; PITT FORD¹⁵⁵, 1993; TORABINEJAD et al.¹⁵⁶, 1994).

Os principais componentes do MTA são: silicato tricálcico, silicato dicálcico, óxido tricálcico e óxido silicato, além de pequenas quantidades de outros óxidos minerais, os quais são responsáveis pelas propriedades físicas e químicas deste material (LEE; MONSEF; TORABINEJAD⁹⁶, 1993; TORABINEJAD; WATSON; PITT FORD¹⁵⁵, 1993). Já segundo CAMILLERI; PITT FORD²⁴ (2006), a composição principal do MTA é de 50-75% de óxido de cálcio e 15-25% de dióxido de silício, e quando estes dois componentes são misturados produzem silicato tricálcico, silicato dicálcico, aluminato tricálcico e ferroaluminato tetracálcico. O pó do MTA apresenta-se em finas partículas hidrofílicas que tomam presa em presença de água. A hidratação do pó apresenta como resultado, a formação de um gel coloidal que se solidifica em 165 minutos (TORABINEJAD et al.¹⁶¹, 1995).

Imediatamente após a descoberta deste material, foram avaliadas *in vitro*, diversas propriedades, tais como, capacidade seladora (LEE; MONSEF; TORABINEJAD⁹⁶, 1993; TORABINEJAD; WATSON; PITT FORD¹⁵⁵, 1993); infiltração marginal (TORABINEJAD et al.¹⁵⁶, 1994; TORABINEJAD et al.¹⁵⁷, 1995), adaptação marginal (TORABINEJAD et al.¹⁵⁹, 1995) pH, radiopacidade, tempo de presa, força de compressão e solubilidade (TORABINEJAD et al.¹⁶¹, 1995) com a obtenção de resultados satisfatórios.

Devido às boas propriedades e resultados apresentados pelo MTA, além de ser utilizado como material retroobturador nas cirurgias pararendodônticas^{3,11,14,15,16,19,29,42,73,109,126,138,146,153,155,156,159,160,163,177}, e tratamento de perfurações dentais^{12,22,23,29,46,53,62,71,73,76,84,98,99,109,117,121,124,144,153,}

^{160,172,176}, o MTA começou a ser empregado em proteções pulpare^{2,4,9,29,48,49,85,109,120,125,153,168}, pulpotomias^{10,29,43,50,70,73,86,102,103,106,107,109,153}, reabsorções dentárias externas e internas^{29,77,108,109,135}, dentes com rizogênese incompleta^{29,51,61,63,101,109,138,142,152,153}, como plug apical^{20,63,109,153}, em tratamento de dentes invaginados^{45,83,90,136}, no tratamento de fraturas dentárias^{137,153}, e na obturação de canais radiculares^{29,67,69,170}.

No ano 1999, foi publicado um abstract por WUCHERPFENNIG; GRENN¹⁷⁴, chamando a atenção da composição do MTA e comparando-a com a do cimento Portland. Neste estudo, foi realizada a análise por Difração de Raios-X de ambos os materiais; avaliando também a biocompatibilidade *in vitro* dos cimentos em culturas de células de osteoblastos MG-63 e a biocompatibilidade *in vivo*, em dentes de ratos, onde realizaram o capeamento pulpar direto. Todas as avaliações apresentadas mostraram respostas similares para ambos os cimentos, sugerindo que o cimento Portland poderia ser um material obturador ideal como o MTA.

No ano de 2000, ESTRELA et al.⁴⁷, publicaram o primeiro artigo analisando os elementos químicos do cimento Portland e comparando-os com os do MTA, onde empregaram o Espectrômetro de Fluorescência de Raios-X. Os resultados mostraram que o cimento Portland contém os mesmos elementos químicos que o MTA, com a exceção de que o MTA apresenta na sua constituição o bismuto. Neste estudo, também foi observada a ação antimicrobiana de ambos os cimentos sobre o *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomona aeruginosa*, *Bacillus subtilis* e o fungo *Cândida albicans*. O cimento Portland e o MTA apresentaram os mesmos resultados, observando-se somente zonas de difusão e não de inibição em todas as amostras.

A partir destes trabalhos, diversos estudos em animais mostraram que o MTA e o cimento Portland apresentam resultados semelhantes quando utilizados em casos de pulpotomia (HOLLAND et al.⁷⁰, 2001; MENEZES et al.¹⁰⁵, 2003; MENEZES et al.^{106,107}, 2004), na obturação dos canais radiculares (HOLLAND et al.⁶⁹, 2001) e no selamento de perfurações (DE DEUS et al.³⁷, 2006; JUÁREZ BROON et al.⁸⁴, 2006).

A biocompatibilidade do cimento Portland também foi avaliada e comparada com a do MTA. Estudos *in vitro* em culturas de células (DE DEUS

et al.³⁶, 2005; RIBEIRO et al.¹²⁸, 2006; RIBEIRO et al.¹²⁹, 2005; RIBEIRO et al.¹³⁰, 2006; SAFAVI; NICHOLS¹³¹, 2000; SAIDON et al.¹³³, 2003; SIPERT et al.¹⁴³, 2005; TANOMARU FILHO et al.¹⁵¹, 2007) e estudos *in vivo* no tecido subcutâneo de ratos (HOLLAND et al.⁷², 2001; MORAES et al.¹¹³, 2001; TRINDADE; OLIVEIRA; FIGUEIREDO¹⁶⁷, 2003) e no tecido ósseo da mandíbula de porcos da Índia (SAIDON et al.¹³², 2002; SAIDON et al.¹³³, 2003) mostraram que ambos os cimentos obtiveram resultados semelhantes entre si e foram biocompatíveis.

A constituição química do cimento Portland também foi estudada e comparada com a do MTA (CAMILLERI et al.²⁷, 2005; DAMMASCHKE et al.³⁴, 2005; DEAL et al.³⁵, 2002; FERREIRA et al.⁵², 2005; FUNTEAS; WALLACE; FOCHTMAN⁵⁵, 2002; GUARIENTI; OSINAGA; FIGUEIREDO⁵⁹, 2002; ISLAM; CHNG; YAP⁸¹, 2006; ISLAM; CHNG; YAP⁸², 2006; SONG et al.¹⁴⁵, 2006) cujos resultados foram semelhantes para ambos os cimentos, com a exceção do MTA, que apresentou o sulfato de bário (encarregado pela radiopacidade do material). O MTA cinza apresenta quantidades maiores de alumínio, magnésio e ferro do que o MTA branco (encarregados de dar a cor escura ao MTA cinza).

O tempo de presa do MTA foi avaliado por diferentes pesquisadores. TORABINEJAD et al.¹⁶¹ (1995), obteve o tempo de presa final do MTA com 165 minutos; DEAL et al.³⁵ (2002), obteve o tempo de presa final do MTA com 156 minutos e do cimento Portland com 159 minutos; CHNG et al.³¹ (2005), obteve o tempo de presa inicial do MTA com 70 minutos; já o tempo de presa final foi obtido com 175 minutos; ISLAM et al.⁸¹ (2006), obteve o tempo de presa inicial do MTA e do cimento Portland com 70 minutos; já o tempo de presa final no cimento Portland foi de 170 minutos e de 175 minutos para o MTA.

O fabricante do ProRoot MTA modificou algumas informações contidas no MSDS (Material Safety Data Sheet) original, acrescentando que o material é composto por 75% de cimento Portland, 20% de óxido de bismuto e 5% sulfato de cálcio dihidratado (BERNABÉ; HOLLAND¹⁵, 2004).

Uma das desvantagens do MTA é o elevado custo, motivo pelo qual o cimento Portland está sendo estudado para diminuí-lo, tentando assim, facilitar o acesso do material as pessoas de baixos recursos econômicos. Outra desvantagem do MTA e do cimento Portland é o tempo de presa demasiado alto, devido à presença do sulfato de cálcio (CAMILLERI et al.²⁶, 2005). O

cimento Portland foi criado basicamente para a edificação e engenharia civil, pelas três características que apresenta: moldável, resistente e duradouro; origina-se a partir da mineração e britagem das matérias primas, seguido pela preparação adequada da mistura crua, denominada “farinha” (realizando-se uma redução do tamanho), com posterior queima por volta de 1450°C em forno rotativo. O produto deste processo vai ser denominado clínquer do cimento portland, o qual se apresenta na forma de pequenas esferas; posteriormente o clínquer é triturado e misturado em proporções adequadas com sulfato de cálcio (gesso) para depois ser comercializado (GOBBO⁵⁶, 2003).

Atualmente, também é comercializado o Endo-CPM-Sealer, que é um selador de canais radiculares, realizado a partir do cimento Portland (CPM = cimento Portland modificado), o qual até agora não tem trabalhos científicos que respaldem sua utilização.

Assim, pareceu nos interessante fazer a avaliação do clínquer do cimento Portland cinza, puro e acrescido com 2 e 5% do sulfato de cálcio e do novo MTA, o Endo-CPM-Sealer.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

Para uma melhor compreensão da revisão da literatura, inicialmente foram revisados os trabalhos pertinentes à implantação subcutânea em ratos, posteriormente os trabalhos sobre o MTA e finalmente, sobre a comparação entre o MTA e o cimento Portland. Esta revisão foi realizada dando-se prioridade aos trabalhos sobre biocompatibilidade e tempo de presa dos cimentos.

2.1 Da implantação subcutânea

O primeiro trabalho sobre os tubos de polietileno em pesquisas de implantação subcutânea foi o de TORNEK¹⁶⁵, em 1966, onde avaliou a reação do tecido conjuntivo ao implante de tubos de polietileno de vários diâmetros e comprimentos. Utilizou-se de ratos *Wistar* com 60 a 75 dias e com peso variando de 140 a 240 gramas. Antes da implantação, os tubos foram desinfetados em solução de iodo e lavados em solução salina. No primeiro grupo experimental, os tubos implantados possuíam as duas extremidades do tubo aberta e no segundo grupo, uma das extremidades do tubo foi selada com calor. Quatro diâmetros e três comprimentos diferentes de tubos foram implantados. Para cada grupo, foram utilizados três animais e a morte dos mesmos ocorreu após o período de 60 dias, onde os implantes e tecidos adjacentes foram processados histologicamente. Os resultados mostraram a formação de uma cápsula fibrosa que envolvia os implantes, rica em fibroblastos e fibras de colágeno. Além disso, observou-se uma invaginação de tecido conjuntivo no interior dos tubos de menor diâmetro e comprimento nos dois grupos. O diâmetro e o comprimento dos tubos parecem influenciar no reparo, criando um ambiente favorável para o reparo. Segundo o autor, a ausência de inflamação no tecido conjuntivo capsular indica a aceitabilidade do material. O autor concluiu que os resultados obtidos neste estudo indicam que os canais radiculares não obturados, porém, completamente limpos e desinfetados, teriam a capacidade de promover a cura dos tecidos periapicais.

PHILLIPS¹²³, em 1967, avaliou a resposta do tecido conjuntivo de ratos aos implantes de tubos de polietileno vazios. Foram empregados tubos de três comprimentos (6, 10, e 15mm) e seis diâmetros diferentes (0,59; 0,77; 1,0; 1,2; 1,4 e 1,7mm). Alguns tubos foram selados em ambas as extremidades e serviram como controle. Primeiramente os tubos foram desinfetados pela imersão em cloreto de benzalcônio 1:1000 por 24h. Foram empregados neste estudo ratos da linhagem *Wistar* com peso aproximado de 160 a 240 gramas. Após a anestesia, os implantes foram colocados na região dorsal interescapular. O período experimental foi de 60 dias, após esse período os animais foram mortos e os blocos que continham o implante e o tecido adjacente foram removidos. Os resultados mostraram que ao redor dos tubos, houve a formação de uma cápsula fibrosa rica em fibroblastos e fibras colágenas, além de poucas células plasmáticas e monócitos, observando também a ausência de necrose. Verificou-se que nos tubos menores e de maior diâmetro, havia uma maior invaginação de tecido conjuntivo. O autor concluiu que não foi observada reação inflamatória em nenhuma extremidade de qualquer tubo de polietileno implantado neste estudo.

TORNECK¹⁶⁶, no mesmo ano (1967), avaliou a resposta do tecido conjuntivo de ratos ao implante de tubos de polietileno preenchidos com fragmentos de músculos estéreis, comparando-os com tubos de polietileno preenchidos com fragmentos de músculos contaminados. Os tubos de polietileno empregados foram de três comprimentos (4, 6 e 10mm) e quatro diâmetros (0,58; 0,86; 1,14 e 1,40mm). Utilizou ratos *Wistar* com 60 a 80 dias e com peso variando de 140 a 175 gramas. Antes do implante, os tubos foram desinfetados em solução de iodo e lavados em solução salina. O trabalho foi dividido em dois grupos: no primeiro grupo, os tubos implantados possuíam no seu interior tecido muscular, o qual foi removido da perna traseira do rato, posteriormente lavado em solução fisiológica e autoclavados. No segundo grupo, foi realizado o mesmo procedimento, só que o músculo não foi autoclavado e foi contaminado com cocos Gram-negativos. Após o período de 60 dias, os animais foram mortos, e removidos os blocos que continham o implante e o tecido adjacente. Realizou-se o processamento histológico dos blocos. As colorações utilizadas foram H.E., Giemsa e Gram. Os resultados

mostraram que o prognóstico de reparo foi menos favorável quando o interior dos tubos foi preenchido com tecido muscular contaminado. Os resultados foram melhores quando o tubo estava estéril e sem preenchimento algum.

Em 1969, LANGE LAND et al.⁹⁵ estudaram métodos para avaliar as respostas biológicas aos materiais endodônticos. Os autores realizaram implantes de pasta N2 em tecido subcutâneo de nove ratos adultos. Foram realizadas incisões horizontais de 1cm na região interescapular, pélvica e abdominal. Tubos de polietileno preenchidos com pasta N2 foram inseridos nas incisões, que posteriormente foram suturadas. Após o período de 14 e 77 dias, os animais foram mortos, e os tecidos preparados para análise microscópica. Os resultados mostraram que no período de 14 dias, o tecido conjuntivo em contato com a pasta N2 apresentava inflamação aguda com intenso infiltrado neutrofílico, macrófagos e células gigantes. Já o tecido conjuntivo em contato com o tubo de polietileno, mostrou a presença de fibrócitos. Aos 77 dias, os resultados mostraram inflamação crônica caracterizada pela presença de linfócitos e macrófagos. Nas regiões de contato com o tubo houve também a presença de fibrócitos. Os autores concluíram que o teste de implantação em tecidos moles tem um valor limitado devido á impossibilidade de avaliá-lo na dentina e no osso alveolar. Concluíram ainda que o teste da implantação deve ser apenas de caráter preliminar e de curta duração e, que testes realizados em dentes devem ser realizados para avaliações decisivas.

HOLLAND et al.⁶⁶, em 1975, estudou a resposta do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos ao implante de cones de guta-percha de diferentes procedências. Empregaram cones de guta-percha: Caulk; Antaeos, Odame e guta-percha utilizada para selamento provisório da S. S. White. Implantaram tubos de polietileno de 1cm de comprimento preenchidos com os materiais experimentais no tecido conjuntivo na região dorsal de ratos. Decorridos 7, 30 e 60 dias, os animais foram mortos e as peças obtidas fixadas em solução de formalina a 10%. Realizaram a inclusão em parafina e microtomia com 6µm de espessura, os cortes foram corados por H.E.. Os resultados mostraram que aos sete dias, não houve diferença entre os vários tipos de guta-percha, apresentou-se uma zona de tecido basófilo localizada entre o material

implantado e o tecido conjuntivo; não foram observadas fibras colágenas, e sim, fibroblastos e macrófagos. Aos 30 dias, todos os espécimes estavam circundados por uma cápsula fibrosa, apresentando fibroblastos e macrófagos, sendo que os linfócitos apresentaram-se em forma reduzida. Aos 60 dias, o número de fibras colágenas era maior ou igual as células gigantes e linfócitos. Os autores concluíram que as diferenças existentes nas fórmulas dos cones de guta-percha não foram suficientes para determinar alterações marcantes na resposta tecidual e que são pouco irritantes ao tecido conjuntivo subcutâneo do rato.

OLSSON; SLIWKOWSKI; LANGELAND¹¹⁹, em 1981, avaliaram a resposta biológica de materiais endodônticos após a implantação dos mesmos em tecido subcutâneo de ratos. O objetivo do trabalho foi estabelecer critérios para avaliar a biocompatibilidade dos materiais obturadores endodônticos. Os autores utilizaram 42 ratos da raça *Sprague-Dawley*, com peso variando entre 350 e 450 gramas. Tubos de teflon de 7mm de comprimento por 1,3mm de diâmetro foram utilizados. Após a sua esterilização tiveram seu interior preenchido com os cimentos: Kloropercha NØ, Kerr Sealer e AH-26. Após os períodos de 14, 30, 90 e 180 dias, os animais foram mortos. As peças foram então fixadas em solução de formol a 10%, seguidas da confecção de cortes seriados de 5µm de espessura que foram corados com H.E., Tricrômio de Masson e Brown-Brenn. Os resultados mostraram que aos 14 e 30 dias, remanescentes do material que foi inserido nos tubos, estavam presentes em partículas dispersas pelo tecido que os envolvia, em vasos sangüíneos, em macrófagos e como corpo estranho no interior de células gigantes. Outro achado em comum foi a presença de células inflamatórias crônicas com a formação de uma cápsula fibrosa, contornando os materiais implantados. Aos 180 dias, a inflamação crônica ainda persistiu; vasos sangüíneos, e corpos estranhos no interior das células gigantes foram um achado bastante comum neste período. Finalmente os autores concluíram que o teste foi adequado para a avaliação qualitativa dos materiais endodônticos, mas que a classificação de biocompatibilidade dos materiais só poderia ser considerada entre materiais com diferentes toxicidades.

ZANONI et al.¹⁷⁸, em 1988, compararam a resposta do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos entre os implantes de tubo de polietileno e os de dentina, obturados com guta-percha e Endomethasone. Empregaram 54 ratos albinos com peso médio de 200 gramas, divididos em dois grupos de 27 animais cada grupo. O grupo A, recebeu tubos de polietileno com 1cm de comprimento e 0,5mm de diâmetro interno; o grupo B, recebeu tubos de dentina preparados a partir da raiz palatina de primeiro molares superiores, os quais foram confeccionados com as mesmas medidas que os tubos de polietileno. Estes grupos foram subdivididos em três subgrupos (A1, A2, A3, B1, B2 e B3). Todos os tubos foram autoclavados a 120°C durante 20 minutos e posteriormente obturados com cones de guta-percha e cimento Endomethasone. No momento da obturação nos grupo A1 e B1, as obturações foram feitas procurando deixar espaços vazios de 0,5 a 1,0mm numa das extremidades dos tubos, nos grupos A2 e B2, o espaço deixado foi de 1,5 a 2,0mm e nos grupos A3 e B3, foi de 4,0mm; nas outras extremidades dos tubos foi feita a obturação total do canal. Decorridos os tempos experimentais (7, 21 e 60 dias), os animais foram mortos e as peças foram coletadas para análise microscópica. Cortes semi-seriados de 6µm de espessura foram realizados e corados com H.E. Os resultados mostraram que no grupo A, todos os subgrupos apresentavam uma invaginação do tecido de granulação, exibindo graus de infiltrado inflamatório sendo mais acentuado nos períodos de 7 e 21 dias nos subgrupos A2 e A3, e de grau moderado no subgrupo A1. Nos subgrupos B1 e B2, apresentaram um tecido com infiltrado inflamatório de grau discreto ou moderado. No subgrupo B3, foi observada inflamação de grau moderado a intenso. Foi observado também, tecido de granulação no espaço vazio dos subgrupos A1, A2, B1 e B2. Já nos subgrupos A3 e B3, não se notou evolução por colagenização, mas houve persistência da reação inflamatória. Os tubos pertencentes ao grupo de dentina de menor espaço vazio, foram aqueles que apresentaram melhor evolução.

ECONOMIDES et al.⁴¹, em 1995, estudaram a biocompatibilidade de quatro cimentos endodônticos, o CRCS, o Sealapex, o Roth 811 e o AH-26. Empregaram 75 ratos *Wistar* de 3 a 4 meses de idade e com peso entre 150 e 200 gramas, divididos em 5 grupos de 5 animais para cada período

experimental. Utilizaram tubos de teflon de 5mm de comprimento por 1,6mm de diâmetro interno. Os tubos continham no seu interior os cimentos experimentais, os quais foram implantados nos tecidos subcutâneos do dorso do rato, tubos vazios foram utilizados como controle. Após os períodos de observação (7, 14 e 21 dias), os animais foram mortos e os tubos foram removidos com o tecido adjacente para serem processadas as lâminas histológicas. A coloração utilizada foi H.E. e Brown-Brenn. Os resultados mostraram que o AH-26, foi o material mais irritante no período de 7 dias e foi decrescendo até o período de 21 dias. No Roth 811 e no Sealapex, observou-se uma reação inflamatória moderada a severa no período de 7 dias, a qual se manteve até o período de 21 dias. O cimento CRCS, mostrou no período de 7 dias uma reação inflamatória moderada, que diminuiu gradativamente até o período de 21 dias.

KOLOKURIS et al.⁹¹, em 1996, compararam, *in vivo*, a biocompatibilidade dos cimentos Ketac-Endo e Tubli-Seal no tecido subcutâneo de ratos. Empregaram 44 ratos *Wistar* de 3 a 4 meses de idade com peso entre 150 a 200 gramas. Os animais foram divididos em 5 grupos de 5 animais. Após anestesia, foi realizada a tricotomia e desinfecção com álcool iodado ao 5% do dorso dos animais. Foram empregados tubos de teflon de 5mm de comprimento e 1,6mm de diâmetro interno, lavados em álcool, autoclavados e preenchidos com os cimentos experimentais. Como controle, foram empregados tubos vazios. Os períodos de observação foram de 5, 15, 60 e 120 dias. Transcorridos estes períodos, os animais foram mortos e os tubos foram removidos juntamente com os tecidos adjacentes e preparados para análise microscópica. Os cortes seriados realizados foram de 6µm e corados com H.E. e Brown-Brenn. A reação tecidual foi medida como leve, moderada e severa. Os resultados mostraram que o Tubli-Seal apresentou uma severa inflamação com áreas de necrose no dia 5 e no dia 15. Já no dia 60, a reação inflamatória diminuiu e observou-se a presença de células gigantes. Finalmente no dia 120, a reação inflamatória foi leve. Por outro lado, no Ketac-Endo foi observada uma reação leve no dia 5, com presença de linfócitos e macrófagos. No dia 15, a inflamação diminuiu e existia a presença de macrófagos, células gigantes e fibroblastos, esta inflamação diminuiu progressivamente até que no dia 120,

consegui-se observar um tecido quase normal. Os autores concluíram que o Ketac-Endo é bem tolerado pelos tecidos, e o Tubli-Seal provocou necrose no período inicial.

2.2 Sobre o MTA

O primeiro trabalho publicado referente ao MTA, foi realizado por LEE; MONSEF; TORABINEJAD⁹⁶, em 1993, quando desenvolveram na Universidade de Loma Linda (Loma Linda, Califórnia – EUA), um cimento para selar as comunicações entre o dente e o periodonto, e avaliaram a capacidade de selamento desse material no tratamento de perfurações radiculares. Empregaram 50 molares inferiores humanos extraídos, que após a sua abertura coronária e localização dos canais mesiais, realizaram uma perfuração na parede mesial do canal com o auxílio de uma broca esférica nº 2 num ângulo de 45°, até atingir superfície externa da raiz. Posteriormente, a perfuração foi alargada com uma lima tipo K nº 80, até ultrapassar 5mm da superfície externa do dente. Os dentes foram divididos em quatro grupos: no grupo I, as perfurações foram seladas com amálgama; no grupo II, com IRM; no grupo III, com MTA e no grupo IV, não foi realizado o selamento, servindo como controle positivo. Os espécimes foram impermeabilizados e mantidos em corante de azul de metileno por 48h. O grau de infiltração foi avaliado com o auxílio de um microscópio com 20X de aumento. Os resultados mostraram que o MTA, apresentou menor infiltração estatisticamente significativa em relação ao amálgama e o IRM.

No mesmo ano (1993), TORABINEJAD et al.¹⁵⁵, compararam a capacidade seladora do MTA com a do amálgama e do Super EBA. Foram utilizados 30 dentes uniradiculados de humanos extraídos, onde a coroa foi removida. Os canais foram alargados até a lima tipo K nº 40 e obturados com guta-percha e cimento Grossman até o forame. As raízes foram impermeabilizadas e posteriormente foram seccionados os 3mm apicais. Após preparar as cavidades apicais, as raízes foram divididas em 3 grupos de 10 cada um: no grupo I, as cavidades foram obturadas com amálgama; no grupo II, foi obturado com Super EBA e no grupo III, com MTA. Depois das

obturações, as raízes foram mantidas num ambiente úmido a 100% durante 24h, para posteriormente realizar a imersão das mesmas numa solução de rodamina B fluorescente por 24h. As raízes foram seccionadas pela metade no sentido longitudinal do dente e a penetração do corante foi medida em milímetros com auxílio de um microscópio (TSM). Os resultados mostraram que o MTA apresentou uma infiltração significativa menor em comparação ao amálgama e Super EBA.

TORABINEJAD et al.¹⁵⁶, em 1994, compararam a infiltração marginal de cavidades apicais obturadas com amálgama, IRM, Super EBA e MTA, em presença ou ausência de sangue. Utilizaram 90 dentes humanos extraídos, os quais foram instrumentados até a lima tipo K nº40 e obturados com gutapercha e cimento Roth's Root Canal Sealer. Os dois milímetros apicais foram seccionados com uma inclinação de 90° onde foi preparada uma cavidade apical de 2mm de profundidade. Cinco cavidades foram obturadas com gutapercha e sem cimento, e outras cinco foram preenchidas com cera em bastão, que serviram como controles positivos e negativos respectivamente. Os 80 dentes restantes foram divididos em 4 grupos iguais, um grupo para cada cimento testado. De cada grupo, a metade dos dentes foi obturada com presença de sangue e a outra metade com ausência de sangue. Imediatamente à obturação, os dentes foram imersos em solução de azul de metileno a 1% durante 72h. As raízes foram cortadas e foi medida a infiltração do corante com o auxílio de um estéreo microscópio. Os resultados mostraram que a presença ou ausência de sangue não teve efeito significativo sobre a infiltração do corante, porém, houve sim diferença significativa entre os materiais, onde o MTA apresentou menor infiltração em comparação com os outros cimentos testados.

No mesmo ano (1994), HONG et al.⁷⁶, examinaram a resposta tecidual de perfurações de furca em cães tratadas com amálgama e MTA, onde empregaram 32 pré-molares inferiores de seis cães da raça Beagle. Após realizar a terapia dos canais, foram realizadas as perfurações na furca dos dentes com uma broca esférica. Na metade dos dentes, as perfurações foram seladas imediatamente com amálgama e MTA; na outra metade, as

perfurações foram mantidas abertas por um período de quatro semanas para induzir a formação de lesões. Passado esse período, as perfurações foram seladas com os mesmos materiais. Depois de quatro meses os animais foram mortos e os resultados da análise radiográfica mostraram que as perfurações seladas com MTA tiveram um reparo significativamente melhor em comparação com as seladas com amálgama. Os resultados mostraram que as perfurações seladas com amálgama apresentaram maior inflamação e reabsorção óssea estatisticamente significativa em comparação com o MTA. Os autores concluíram que o MTA pode ser utilizado em selamento de furcas.

PITT FORD et al.¹²⁴, em 1995, avaliaram a resposta do tecido perirradicular na região de furca nos dentes de cães. Realizaram 28 perfurações na furca de pré-molares inferiores de sete animais. Metade dos dentes, tiveram as perfurações seladas imediatamente com amálgama e MTA. Na outra metade, as perfurações foram contaminadas com saliva e deixadas abertas ao meio bucal por seis semanas, para posteriormente serem seladas com amálgama e MTA. Os animais foram mortos após quatro meses e as peças foram preparadas e analisadas microscopicamente. Os resultados mostraram que no grupo dos dentes selados imediatamente com amálgama a inflamação era de moderada a severa, enquanto que com o MTA ocorreu a formação de novo cimento em cinco dos seis dentes. No grupo dos dentes contaminados que foram selados com amálgama, apresentaram áreas de inflamação; e os que foram selados com MTA, três estavam livres de inflamação e quatro com áreas inflamadas. Os autores concluíram que o MTA é um material mais conveniente que o amálgama para o reparo de perfurações, especialmente quando estas foram seladas imediatamente.

TORABINEJAD et al.¹⁶¹, em 1995, compararam o tempo de presa do MTA com outros cimentos retroobturadores. Foram avaliados o MTA, amálgama, Super EBA e IRM. O tempo de presa dos materiais foi determinado de acordo a norma nº 30 da ADA. Primeiramente os materiais foram manipulados conforme as recomendações dos fabricantes; posteriormente, foram inseridos em matrizes metálicas de 15mm de diâmetro e 5mm de altura, deixando-as sobre uma placa de vidro. Após 180 segundos de ter iniciado a

manipulação dos materiais, colocou-se uma força vertical sobre a superfície dos materiais testados (para isto se empregou uma agulha de Gillmore), onde foi notada a formação de uma depressão. Este processo foi repetido cada 30 segundos, até que observaram que a agulha não foi capaz de produzir uma endentação na superfície do material. Considerou-se como tempo de presa, o espaço de tempo que houve desde que o material começou a ser manipulado até que a agulha de Gillmore deixasse de produzir a depressão. Os resultados mostraram que todos os materiais endureceram rapidamente, com exceção do MTA. O tempo de presa para o amálgama foi de 4 minutos, para o IRM 6 minutos, para o Super EBA 9 minutos e para o MTA 2 horas e 45 minutos (165 minutos).

No mesmo ano (1995), TORABINEJAD et al.¹⁵⁸, estudaram a citotoxicidade do MTA em comparação com a do amálgama, Super EBA e IRM. Para este estudo, foram utilizados fibroblastos de camundongos tipo L929 e os métodos de cobertura com ágar e liberação de radiocromo. Os cimentos foram preparados e introduzidos em tubos de polietileno de alta densidade de 8mm de diâmetro interno previamente autoclavados. Foram testados os cimentos imediatamente após serem preparados, e 24h após preparo (presa final). Os materiais que foram estudados após as 24h, foram mantidos numa temperatura de 37° a 100% de umidade. Após a incubação por 24h das células com os materiais recém-preparados, adicionou-se o corante vermelho neutro, o que fez que fossem pigmentadas as células viáveis com a cor rosa, sem que se repetisse a mesma ação nas células mortas. O diâmetro das zonas de inibição foi medido com o auxílio de uma régua milimetrada. Os resultados mostraram que o amálgama se mostrou menos tóxico do que os demais materiais avaliados tanto quando recém-preparado, como após a sua presa final. O Super EBA e o IRM foram os materiais que mostraram mais citotoxicidade. Finalmente o MTA apresentou-se menos citotóxico do que o Super EBA e o IRM. Já no caso onde foi realizado o teste de liberação do radiocromo, o MTA foi o material menos tóxico, seguido pelo amálgama, Super EBA e IRM, porém, não houve diferença estatisticamente significativa entre os materiais. Os autores concluíram que o MTA pode ser empregado como material de obturação retrógrada permitindo assim avaliações in vivo.

A biocompatibilidade do MTA foi examinada por TORABINEJAD et al.¹⁶², em 1995, quando compararam a reação tecidual da mandíbula de porcos da Índia frente a implantes de Super EBA e MTA. Os autores empregaram sete animais, os quais, através de procedimentos cirúrgicos, receberam duas lojas ósseas de 2mm de diâmetro por 2mm de profundidade nas suas mandíbulas. Utilizaram-se tubos de teflon preenchidos com os materiais, os quais foram inseridos nas lojas ósseas de seis animais, o sétimo animal ficou com as duas lojas vazias para serem usadas como controle negativo. Após o período de dois meses, os animais foram mortos e os implantes junto ao material adjacente foi processado e avaliado microscopicamente. Tomou-se em conta nesta avaliação: a presença de tecido conjuntivo ou ósseo justaposto ao material, a ocorrência da inflamação, os tipos de células inflamatórias e espessura do tecido conjuntivo adjacente ao material. Os resultados mostraram que o MTA se comportou melhor do que o Super EBA ao promover uma reação inflamatória mais discreta. As amostras do Super EBA apresentavam tecido conjuntivo fibroso junto ao cimento, já no MTA foi observado tecido ósseo adjacente ao implante em uma das cinco amostras. Também foi observada uma inflamação leve em todos os implantes do Super EBA; no caso do MTA três dos cinco implantes estavam livres de inflamação. As células predominantes em ambos os materiais foram os macrófagos e células gigantes. Os autores concluíram que tanto o MTA como o Super EBA, podem ser considerados materiais biocompatíveis.

A resposta dos tecidos periapicais de cães frente ao MTA e o amálgama quando é usado como cimento retroobturador foi investigada por TORABINEJAD et al.¹⁶⁰, em 1995. Empregaram os terceiros e quartos pré-molares inferiores de seis cães da raça Beagle de dois anos de idade. Após a anestesia dos animais e a realização da abertura coronária, realizou-se o preparo químico-mecânico dos canais radiculares, alargando os canais até a lima tipo K nº 40, onde deixaram os canais abertos e expostos à flora oral por um período de duas semanas e posteriormente fechadas por quatro semanas, tempo suficiente para conseguir a formação de lesões. Os autores dividiram os dentes em dois grupos de 12 dentes cada um. No grupo I, os canais foram

limpos, instrumentados e obturados com guta-percha e cimento endodôntico Roth, e as suas cavidades de acesso foram obturadas com MTA. No grupo II, depois de ser realizada a limpeza e instrumentação dos canais radiculares, a obturação foi realizada somente com cones de guta-percha sem a presença de cimento obturador e as cavidades de acesso dos dentes foram deixadas abertas, ficando expostas ao meio oral. Após duas semanas os animais foram submetidos a cirurgia parendodôntica dos dentes tratados, onde foram realizadas apicectomias num ângulo de 45° e o preparo das cavidades com 2mm de profundidade. As retroobturações foram realizadas com amálgama num dente e com MTA no outro em ambos os lados da mandíbula. A metade dos animais foi morta entre a 2° e 5° semana pós-cirurgia e o restante entre a 10° e 18° semana. As peças foram processadas e submetidas à análise microscópica. Os resultados mostraram que nos dois grupos e nos dois períodos não houve formação de cápsula fibrosa em volta do amálgama, porém, no caso do MTA, observou-se a formação da cápsula em 19 das 21 amostras. Observaram que os tecidos perirradiculares de todas as amostras obturadas com amálgama apresentavam inflamação de moderada a severa; no caso do MTA, somente 1/3 das amostras tinham inflamação moderada. Outra observação que os autores descreveram foi a formação de cimento em uma das 11 amostras do primeiro período do MTA, já no segundo período todos os espécimes apresentaram formação de cimento. Com estes resultados os autores concluíram que o MTA, é provavelmente capaz de induzir a ativação dos cementoblastos; segundo os autores, devido às boas propriedades seladoras do MTA, seu elevado pH e a liberação de substâncias capazes de ativar cementogênese.

No ano 1996, ABEDI et al.², compararam o efeito do MTA e o hidróxido de cálcio em casos de capeamento pulpar. Onde foram realizadas seis exposições pulpares standardizadas nas cúspides dos molares de seis cães e nos incisivos inferiores de quatro macacos. Imediatamente as exposições foram capeadas com MTA e hidróxido de Cálcio (Dycal) e as cavidades foram restauradas com amálgama. Decorridos dois e cinco meses os animais foram mortos e as coroas dos dentes tratados foram removidas, colocadas em formalina e, descalcificadas em EDTA. Realizaram-se os cortes

microscópicos, que foram corados em H.E.. A quantidade de formação de tecido mineralizado e a reação inflamatória foi analisada utilizando a histometria computadorizada. Os resultados mostraram uma formação de pontes mineralizados significantes e uma menor inflamação no grupo do MTA comparada ao grupo de hidróxido de cálcio. Os autores concluíram que o MTA pode ser utilizado em capeamentos pulpaes.

PITT FORD et al.¹²⁵, em 1996, compararam a resposta da polpa dental de macacos frente ao MTA e ao hidróxido de cálcio (Dycal) utilizados como materiais capeadores. Utilizaram 12 incisivos inferiores de quatro animais. Nas coroas foram feitas cavidades até atingir a câmara pulpar, produzindo uma exposição pulpar de 1mm de diâmetro aproximadamente. No primeiro grupo, empregaram hidróxido de cálcio, onde as cavidades foram restauradas com amálgama. No segundo grupo, empregaram MTA e as cavidades foram fechadas completamente com o MTA. Decorrido o período experimental de cinco meses, os animais foram mortos e os dentes conjuntamente com seus tecidos adjacentes foram removidos para realizar o processamento histológico, utilizando as técnicas de coloração H.E. e Brown-Brenn. Os resultados mostraram que todas as polpas capeadas com MTA apresentaram formação de uma ponte de dentina adjacente ao material, além de apresentar inflamação somente em um dos seis dentes. Já no caso do hidróxido de cálcio, observaram que apenas dois dentes apresentavam a formação da ponte de dentina e, todas as amostras deste grupo apresentavam inflamação. Baseados nestes resultados os autores concluíram que o MTA é um material adequado para a realização de capeamentos pulpaes.

TORABINEJAD et al.¹⁶³, em 1997, investigaram a resposta dos tecidos periapicais de macacos frente ao MTA e ao amálgama quando são empregados como materiais retroobturadores. Utilizaram 12 incisivos superiores de três macacos da raça *Cynomolgus*. Após anestesia dos animais, realizaram o isolamento absoluto e, foi confeccionado o acesso à polpa. Os canais foram instrumentados até a lima tipo K nº 40 e obturados com gutapercha e cimento Roth. Uma semana após a obturação, foi realizado o procedimento cirúrgico, realizando a apicectomia e a cavidade retrograda com

2 mm de profundidade. Na metade dos dentes foi realizada a retroobturação com amálgama e na outra metade com MTA. Cinco meses depois, os animais foram mortos e, os dentes em conjunto com os tecidos circundantes foram removidos e processados histologicamente. Os resultados mostraram que apenas um dos seis espécimes obturados com MTA apresentava inflamação periapical severa. Nos cinco espécimes sem inflamação houve formação de cimento em contato com o material; isto ocorreu, segundo os autores, devido à biocompatibilidade do MTA, do seu pH alcalino e da sua capacidade de estimular a liberação de citosinas dos osteoblastos. Dos seis espécimes do grupo do amálgama, dois espécimes apresentaram inflamação periapical moderada e quatro inflamação severa.

No mesmo ano (1997), KOH et al.⁸⁸, estudaram a ação do MTA na produção de citosinas em osteoblastos humanos e se o material permitia uma boa aderência das células na sua superfície. Utilizaram um meio de cultura para osteoblastos (MG-63), onde foi colocado o MTA e o Polimetilmetacrilato (PMA – cimento usado comumente na ortopedia). Como grupo controle, utilizaram placas de células sem presença de MTA. Os resultados mostraram crescimento celular na superfície do MTA a partir de seis horas e incrementando-se até 144 horas, ao contrário das sem MTA ou na presença de PMA, que produziram quantidades não detectáveis de células. Os ensaios de ELISA mostraram níveis aumentados de todas as interleucinas, na presença de MTA (IL-1 α - 175,1 $\pm$ 32,6 pg/ml.); (IL-1 β - 154,0 $\pm$ 26,7 pg/ml.); (IL6 - 214,7 $\pm$ 21,8 pg/ml.), em contraste com o PMA, enquanto que sem a presença de MTA, produziram um conteúdo insignificante de citosinas.

Em 1998, JUNN et al.⁸⁵, quantificaram a formação de dentina quando o MTA e o hidróxido de cálcio foram utilizados como capeadores na polpa. Foram realizadas as exposições pulparest standardizadas de 63 dentes em quatro cães da raça *Beagle*, as quais foram capeadas, num grupo, com pasta à base de hidróxido de cálcio e as cavidades restauradas com amálgama. No outro grupo, o capeamento pulpar foi realizado com MTA e as cavidades foram seladas com o MTA. Os períodos experimentais foram de 1, 2, 4 e 8 semanas. Decorrido os tempos experimentais, os animais foram mortos e

os espécimes foram processados histologicamente. O grau da inflamação da polpa e a formação de dentina foi mensurada utilizando o programa Image-PRO. Os resultados mostraram ausência de inflamação em 30 dos 32 espécimes no grupo do MTA; já, no grupo do hidróxido de cálcio, a ausência de inflamação foi observada em 13 dos 31 espécimes. Houve uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos. A formação de tecido mineralizado foi observada no período de duas semanas no grupo do MTA; no caso do hidróxido de cálcio foi observada no período de quatro semanas. Na oitava semana, foi observada a formação completa de pontes de dentina em 21 dos espécimes com MTA e, em dois dos espécimes no grupo do hidróxido de cálcio. Houve uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos. Baseados nestes resultados, os autores concluíram que o MTA é um efetivo material capeador pulpar.

TORABINEJAD et al.¹⁶⁴, em 1998, avaliaram a reação tecidual do MTA na tíbia e mandíbula de porcos da Índia, comparando as reações frente ao amálgama, IRM e Super EBA. Foram utilizados 20 animais. Na tíbia foram confeccionadas pequenas cavidades onde foram implantados tubos de teflon contendo os quatro cimentos experimentais. Dez dias após a primeira cirurgia, foram implantados os mesmos cimentos na mandíbula dos mesmos animais. Oitenta dias após de terem sido feitos os implantes da mandíbula, os animais foram mortos. Os resultados mostraram que a reação tecidual ao MTA foi a mais favorável entre todos os cimentos avaliados, onde não houve presença de inflamação e observou-se presença de tecido mineralizado adjacente ao implante em seis dos 21 espécimes. Já nos outros três cimentos a resposta foi semelhante entre eles e não tão favoráveis quanto ao MTA. Baseados nestes resultados, os autores concluíram que o MTA teve a resposta tecidual mais favorável em relação aos outros cimentos e, que o MTA parece ser um material biocompatível.

A resposta celular ao MTA foi investigada por KOH et al.⁸⁹ em 1998. Utilizando-se de culturas de células compararam a citomorfologia dos osteoblastos em contato com o IRM e MTA. Também foi avaliada a formação de citosinas: interleucinas 1 α , 1 β e 6. A produção dessas citocinas, segundo os

autores, está relacionada com as duas fases da formação óssea. Na primeira fase de estimulação da migração e diferenciação celular encontra-se uma maior quantidade de interleucina 1 e do fator de estimulação dos macrófagos(M-CSF). Já, a fase de maturação da matriz óssea neoformada é controlada por uma maior quantidade de outras citosinas. Os materiais testados foram manipulados conforme instruções do fabricante e colocados separados em placas de Petri. Os osteoblastos (linhagem celular MG-63) cresceram em confluência no meio de Eagle modificado por Hams/Dulbecco's, e foram semeados em placas que foram incubadas por um a sete dias. Os espécimes foram visualizados por microscopia eletrônica de varredura. Para avaliação das citocinas, as células foram colocadas para crescer tanto sozinhas, quanto em placas contendo os materiais a serem testados por 1 a 144 horas. Os meios foram removidos para análise ELISA de interleucinas (IL-12, IL-1B, IL-6) e fator estimulador de colônias de macrófago. A microscopia eletrônica de varredura mostrou que as células em contato com o MTA de um a três dias, apresentaram-se saudáveis, com aparência achatada e estavam aderidas ao cimento, indicando que o cimento foi biocompatível. Já as células em contato com o IRM apresentavam forma arredondada, indicando que o IRM é tóxico, provavelmente devido à toxicidade do eugenol contido no líquido do IRM. O teste ELISA revelou níveis elevados de todas as interleucinas em todos os períodos de tempo, quando as células cresceram na presença do MTA. Em contraste, quando as células cresceram sozinhas ou em contato com o IRM os níveis de interleucinas foram indetectáveis. Os autores concluíram que o MTA funciona como substrato biológico para células ósseas e estimula a formação de interleucina.

SHABAHANG et al.¹³⁸, em 1999, investigaram a capacidade indutora no tratamento de dentes com rizogênese incompleta com diferentes materiais. Em 64 pré-molares de quatro cães da raça *Beagle* com seis meses de idade, induziram lesões periapicais por meio da exposição das cavidades pulpares ao meio oral por 14 dias. Decorridos os 14 dias da contaminação inicial, as cavidades foram seladas com Cavit durante outros 14 dias, tempo suficiente para observar as lesões nas radiografias. Posteriormente, realizaram o preparo químico-mecânico com auxílio de instrumentos rotatórios e colocaram curativo

com pasta de hidróxido de cálcio por uma semana. Os canais foram divididos em quatro grupos: no grupo I, os canais foram preenchidos com O-P1 (proteína morfogenética); no grupo II, com pasta de hidróxido de cálcio e no grupo III, com MTA. O grupo IV, serviu como controle negativo onde os canais foram preenchidos com colágeno. A abertura coronária de todos os grupos foi selada com MTA. Os animais foram mortos após o período experimental de 12 semanas e, as peças foram processadas para análise microscópica, empregando-se o programa Image-Pro Plus para calcular a quantidade de tecido mineralizado formado, assim como, o grau de inflamação adjacente à área do tecido neoformado. O MTA promoveu formação de tecido mineralizado mais intensa do que os outros materiais. Não houve diferença estatística significativa na quantidade de tecido mineralizado neoformado entre os materiais testados. Da mesma forma concluíram que não houve diferença estatística significativa quanto ao grau de inflamação entre os grupos avaliados.

HOLLAND et al.⁶⁸, em 1999, avaliaram a reação do tecido subcutâneo em ratos à implantação de tubos de dentina contendo MTA e hidróxido de cálcio. Os tubos de dentina tinham um comprimento de 7mm e foram preparados a partir de raízes de dentes humanos. Os canais foram alargados com uma lima tipo K nº 35 até atingir 2mm aquém do forame apical. Os tubos foram divididos em dois grupos e preenchidos com hidróxido de cálcio no grupo I e com MTA no grupo II; no grupo controle utilizaram tubos de dentina vazios. Estes tubos foram implantados no dorso de 40 ratos. Os animais foram mortos sete e 30 dias após a implantação. Posteriormente, os tubos foram removidos em conjunto com os tecidos adjacentes e foram processados para análise microscópica. As peças foram coradas com H.E. e Von Kossa. Os resultados do grupo de controle mostraram no período de sete dias, uma camada de exsudado com neutrófilos ao redor do implante, células inflamatórias crônicas, e a presença de fibroblastos jovens. Aos 30 dias, apresentaram crescimentos de tecido conjuntivo contendo algumas células inflamatórias. No grupo I, aos sete dias, observaram numerosas granulações birrefringentes à luz polarizada, localizadas no interior e perto da embocadura do tubo, rodeados por tecido conjuntivo com reação inflamatória de leve a moderada. Aos 30 dias, os resultados foram semelhantes. No grupo II, aos sete

dias, os resultados foram quase os mesmos que no grupo I, as granulações birrefringentes encontravam-se em contato com os materiais e em menor número que no grupo I. O tecido conjuntivo ao redor dos tubos mostrava proliferação de fibroblastos e reação inflamatória crônica de leve a moderada. Já aos 30 dias, os resultados foram semelhantes aos do primeiro período, apresentando uma reação inflamatória leve. Os autores concluíram que os dois cimentos apresentaram formação de tecido mineralizado, e que o mecanismo de ação de ambos os materiais são similares.

No mesmo ano, HOLLAND et al.⁶⁷, observaram a reação dos tecidos periapicais em dentes de cães frente ao MTA e ao Ketac-Endo. Empregaram 30 canais de dois animais, os quais foram instrumentados até o ápice radiográfico com uma lima tipo K nº 30. Imediatamente, os canais foram instrumentados até a lima tipo K nº 60 atingindo 0,5mm ou 1mm aquém do ápice radiográfico, para realizar o batente apical. Deixaram os canais com um curativo de Otosporin e selaram as cavidades com cimento de óxido de zinco e eugenol. Uma semana depois, os canais foram reabertos e obturados com cones de guta-percha e com MTA na metade das amostras e com cones de guta-percha e Ketac-Endo na outra metade. Após 180 dias, os animais foram sacrificados e as amostras foram processadas histologicamente. Os resultados mostraram que no grupo do MTA todas as amostras apresentaram ausência de reação inflamatória no ligamento periodontal e total fechamento do forame apical, observando-se formação de um novo cimento no forame. No grupo do Ketac-Endo, observou-se presença de inflamação crônica leve em algumas das amostras e nas outras ausência, observou-se também fechamento parcial do forame só em 2 das 13 amostras. Os autores concluíram que ambos os cimentos são biocompatíveis, porém, o MTA apresenta melhores propriedades biológicas.

Em 1999, TORABINEJAD; CHIVIAN¹⁵³, descreveram as indicações e os métodos de aplicação clínica do MTA. Os autores indicam que ele pode ser empregado nos tratamentos conservadores da polpa, ou seja, capeamento pulpar direto e pulpotomias, para formação do plug em apicificações, fechamento de perfurações radiculares, na cirurgia parendodôntica

(empregando-se o material nas obturações retrógradas), como restaurador provisório, nos casos de clareamento dental interno como tampão e nas fraturas verticais.

A citotoxicidade do MTA foi investigada e comparada com a do Super EBA e o amálgama por KEISER; JOHNSON; TIPTON⁸⁷ no ano 2000. Neste trabalho, os autores utilizaram cultura de fibroblastos obtidos a partir do ligamento periodontal de terceiros molares impactados extraídos. As amostras foram divididas em dois grupos: no primeiro grupo, trabalharam com o material recém-manipulado e no segundo grupo, com o material que já tinha sido manipulado 24h antes (já tinha tomado presa). Os resultados do primeiro grupo mostraram que a toxicidade do amálgama foi maior, seguida pelo Super EBA e por último o MTA. No segundo grupo, a maior toxicidade foi para o Super EBA, seguido pelo MTA e por último o amálgama. Com estes resultados os autores concluíram que o MTA pode ser utilizado como cimento retroobturador.

ZHU et al.¹⁷⁹, em 2000, observaram a capacidade de adesão de osteoblastos humanos ao MTA, IRM, resina composta e ao amálgama. Discos contendo os materiais retroobturadores já endurecidos foram colocados durante um dia no meio de cultura para posteriormente serem analisados no microscópio eletrônico de varredura. A adesão, difusão, propagação ou expansão de células sobre a superfície de um material representam a fase inicial da função celular. A persistência de células circulares ou arredondadas com pouca ou nenhuma difusão, sugere que a superfície do material pode ser tóxica. Os resultados mostraram que os osteoblastos fixaram-se e propagaram-se sobre a superfície do MTA e da resina composta, formando uma monocamada de células. No caso do amálgama comparada com o MTA e a resina composta, os osteoblastos fixaram-se em menor proporção e com pouca difusão de células. Na presença do IRM os osteoblastos apresentaram-se em menor quantidade que qualquer um dos cimentos avaliados, além de apresentar uma forma circular e sem expansão. Os resultados indicaram uma resposta favorável ao MTA e à resina composta em comparação ao IRM e amálgama.

A biocompatibilidade do MTA foi avaliada por MORETTON et al.¹¹⁵ em 2000, onde compararam a resposta tecidual subcutânea e intraóssea dos implantes de MTA e Super EBA. Empregaram 60 ratos *Sprague-Dawley* com peso entre 195 e 227 gramas. Os animais foram divididos em dois grupos de 30. O primeiro grupo recebeu implantes de MTA e o segundo, recebeu implantes de Super EBA. Cada animal recebeu dois implantes idênticos no osso parietal e dois implantes no tecido subcutâneo. Os períodos experimentais foram de 15, 30 e 60 dias. Para cada período foram empregados 10 animais de cada grupo. Os resultados microscópicos mostraram que no grupo do MTA se produziu uma reação inflamatória severa nos 15 primeiros dias, já aos 30 e 60 dias, diminuiu. No infiltrado inflamatório observou-se macrófagos, linfócitos, células plasmáticas e células gigantes de tipo corpo estranho. Já no grupo do Super EBA, predominou uma resposta inflamatória moderada com alguns espécimes que tiveram resposta severa no período de 15 dias. Nesse infiltrado predominaram os linfócitos e macrófagos. Aos 30 e 60 dias, a resposta inflamatória foi predominantemente leve, onde também foi observado o encapsulamento do cimento por tecido conjuntivo fibroso. Não foi observada osteogênese em nenhum dos espécimes nos três períodos. Nos implantes intraósseos a resposta inflamatória foi menor que no tecido subcutâneo. Observou-se osteogênese nos dois grupos experimentais, nos períodos de 15 e 30 dias a osteogênese foi similar para os dois grupos. No período de 60 dias, o Super EBA apresentou maior osteogênese que o MTA. Os autores concluíram que ambos os materiais podem ser considerados biocompatíveis, porém, estes materiais produzem diferentes respostas inflamatórias. O cimento EBA foi considerado de nível dois, isto é, materiais como guta-percha e óxido de zinco, que provocam uma resposta inicial de leve a moderada, que diminui com o tempo. Já o MTA, foi considerado de nível três, assim como o hidróxido de cálcio, ou seja, o material induz uma resposta inflamatória inicial de moderada a severa, incluindo respostas teciduais como formação de células gigantes do tipo corpo estranho, necrose coagulativa e calcificações distróficas e essa resposta diminui com o tempo.

FARACO JUNIOR; HOLLAND⁴⁸, em 2001, compararam a resposta tecidual da polpa de dentes de cães após o capeamento com MTA e cimento

de hidróxido de cálcio. Utilizaram 30 dentes de três animais nos quais foram realizadas cavidades na superfície vestibular dos dentes, até produzir exposições das polpas de 0,5mm de diâmetro. Após controlar a hemorragia, foi realizada a proteção da polpa. Os dentes foram divididos em dois grupos: no grupo I, o capeamento foi realizado com o MTA e no grupo II, com o cimento de hidróxido de cálcio. O selamento coronário foi realizado com cimento de óxido de zinco e eugenol. Dois meses depois do capeamento os animais foram mortos e os dentes foram processados histologicamente. Os cortes teciduais foram colorados com H.E. e Brown-Brenn. No grupo do hidróxido de cálcio, foi observada a formação de uma ponte de dentina só em cinco dos espécimes. Não foi observada zona de necrose em contato com o cimento. Em três dos espécimes, não houve presença de reação inflamatória; em quatro, observou-se microabscessos na polpa coronária. Inflamação crônica foi vista em 12 espécimes com variável intensidade e extensão. Observaram-se bactérias gram-positivas em quatro dos espécimes. No MTA observou-se presença de pontes de dentina em todos os espécimes, dos quais oito, apresentavam pequena quantidade de tecido necrótico pulpar na parte superficial das pontes. Não foi achado infiltrado inflamatório nem microorganismos em nenhum dos espécimes. De acordo com os resultados do estudo os autores concluíram que o MTA é superior ao cimento de hidróxido de cálcio para os procedimentos de capeamento pulpar.

HOLLAND et al.⁷¹, em 2001, observaram o processo de reparo de perfurações radiculares laterais após o selamento com MTA. Foram empregados 48 canais de dentes de cães. Após a abertura coronária, o tecido pulpar foi removido e, os canais instrumentados e obturados com cones de guta-percha e cimento. Posteriormente, foi removida a obturação do canal parcialmente e foi realizada intencionalmente uma perfuração no terço cervical da raiz. Imediatamente após controlar a hemorragia foi realizado o selamento das perfurações com MTA e Sealapex (controle). Depois dos 30 e 180 dias, os animais foram mortos e, os dentes e seus tecidos adjacentes foram preparados para a análise microscópica. No período de 30 dias, quatro casos reparados com MTA apresentaram deposição de cimento sobre o material e o ligamento periodontal encontrava-se livre de inflamação. Sete apresentavam pequenas

áreas de anquilose próximo à perfuração, três apresentavam sobre-obturação com algumas células inflamatórias crônicas. No mesmo período o Sealapex mostrou seis casos de reação inflamatória crônica e 12 mostraram pequenas áreas de anquilose; o tecido periodontal adjacente à perfuração apresentava tecido necrótico. No período de 60 dias, o MTA apresentou em nove casos a presença de cimento neoformado sobre o cimento e, 10 casos estavam livres de inflamação; anquilose não foi observada nesse período. No grupo do Sealapex observaram três casos de cimento sobre o cimento, mas somente próximo às paredes da perfuração. Todos os casos tratados com Sealapex apresentaram uma reação inflamatória crônica e nenhum dos casos apresentou anquilose. Com os resultados observados os autores concluíram que o MTA pode ser empregado nos casos de perfurações radiculares apresentando melhores resultados que o Sealapex.

O efeito dentinogênico do MTA foi avaliado por TZIAFAS et al.¹⁶⁸ em 2002. Neste estudo, os autores empregaram 33 dentes de três cães, nos quais, após expor as polpas dentárias, receberam a proteção pulpar com MTA e posteriormente a cavidade foi restaurada com amálgama. Os períodos experimentais foram de 1, 2 e 3 semanas. Vinte e um dentes foram analisados em microscopia óptica, seis foram avaliados por meio de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e seis foram avaliados por microscopia eletrônica de varredura (SEM). Nos resultados da primeira semana, os autores observaram uma zona homogênea de estrutura cristalina iniciando sua formação entre o MTA e a polpa, ao mesmo tempo em que células pulpares com mudanças em seu estado citológico e funcional estavam depositadas próximas aos cristais. Na segunda semana, foi observada a deposição de um tecido mineralizado de forma osteóide em contato íntimo com o MTA e com estruturas cristalinas em todos os dentes. Na terceira semana, observou-se uma barreira de tecido mineralizado obliterando todo o tecido pulpar. De acordo com os autores, essa camada era formada por uma camada irregular de osteodentina e uma matriz de dentina composta por células alongadas, identificadas através de microscopia eletrônica de varredura como estrutura de dentina reparadora. Os autores concluíram que o MTA é um material capeador efetivo, capaz de estimular a formação de uma ponte de dentina.

HOLLAND et al.⁷⁴, em 2002, observaram a reação do tecido subcutâneo de ratos à implantação de cimentos que contém hidróxido de cálcio. Empregaram tubos de dentina obtidos a partir de raízes de dentes humanos extraídos, preenchidos com o MTA, Sealapex, CRCS, Sealer 26 e Sealer Plus. Foram empregados 60 ratos, divididos em cinco grupos, onde cada um recebeu um implante com um cimento. Para o grupo controle, empregaram 10 ratos onde se implantaram tubos de dentina vazios. Os animais foram mortos depois de sete e 30 dias da implantação dos tubos e, as peças foram coletadas com o tecido adjacente ao tubo e foram processadas histologicamente. No grupo controle os resultados mostraram uma ligeira inflamação tecidual no período de sete dias; já no período de 30 dias apresentaram uma cápsula fibrosa e poucas células inflamatórias. No grupo do CRCS não foi observada a presença de tecido mineralizado, porém, em todos os outros materiais, observaram a presença de estrutura mineralizada, sendo em maior quantidade nos espécimes com MTA e Sealapex. Os autores concluíram que o CRCS pode ter uma menor possibilidade de estimular a deposição de tecido mineralizado e que os outros materiais podem induzir o fechamento do forame apical.

REGAN; GUTMANN; WITHERSPOON¹²⁶, em 2002, avaliaram o potencial de reparo do MTA e do Diaket quando empregados como materiais retroobturadores nos tecidos perirradiculares de cães. Foram utilizados os terceiro e quartos pré-molares de sete cães. Após a anestesia dos animais e isolamento absoluto dos dentes, foi realizada a abertura coronária, o preparo químico-mecânico e a obturação dos canais radiculares. As cavidades coronárias foram restauradas com IRM. Posteriormente foi realizada a apicectomia e o preparo da cavidade apical de aproximadamente 1,5mm de diâmetro por 2mm de profundidade. As cavidades foram seladas com MTA e Diaket. Sessenta dias após a cirurgia os animais foram mortos e os dentes juntos com seus tecidos adjacentes foram processados para a análise microscópica. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre ambos os materiais na presença de inflamação ou abscessos. Nos dois materiais, observaram a presença de cimento sobre o material. Os autores

concluíram que este estudo sugere que ambos os materiais podem induzir a formação de cimento sobre o material.

A resposta dos tecidos perirradiculares ao MTA num curto espaço de tempo foi avaliada por ECONOMIDES et al.⁴² em 2003. Foram utilizados 24 canais radiculares de dois cães. As raízes foram divididas em quatro períodos experimentais de 1, 2, 3 e 5 semanas, esta divisão foi feita por hemi-arcadas dos animais, uma hemi-arcada para cada semana. Foram realizadas as aberturas coronárias, os canais foram instrumentados até a lima nº 40 e obturados com cones de guta-percha e cimento Roth 801. As cavidades foram restauradas com amálgama. Na mesma seção foi realizada a cirurgia parendodôntica, realizando a apicectomia e preparo da cavidade apical de 3mm de profundidade. As cavidades foram retroobturadas, oito com IRM e 14 com MTA. Decorridos os períodos experimentais os animais foram mortos e as amostras foram processadas para análise microscópica. Duas das amostras obturadas com MTA foram analisadas com microscópio eletrônico de varredura. Os resultados mostraram que no grupo do MTA, no período de uma semana, foi observada a presença de tecido conjuntivo frouxo e que com o avanço do tempo nos outros três períodos foi se formando uma camada fina de tecido mineralizado. Nos tecidos perirradiculares, houve presença de uma leve inflamação em todos os períodos. Na microscopia de varredura observou-se uma estrutura homogênea e bem organizada de cristais sobre a superfície do MTA. Já no grupo do IRM, foi observada presença de poucas fibras de colágeno sobre o cimento e inflamação de moderada a severa em seis dos oito espécimes. Também observaram a ausência de formação de tecido mineralizado. Baseados nestes resultados os autores concluíram que o MTA é um material biocompatível quando usado como material retroobturador, capaz de estimular o reparo dos tecidos perirradiculares.

DUARTE et al.³⁹, em 2003, avaliaram *in vitro*, a liberação de íons de cálcio e o pH de dois MTAs. Os materiais empregados foram o MTA ProRoot e o MTA-Ângelus. Estes materiais foram manipulados com água deionizada e introduzidos em tubos plásticos de 10mm de comprimento com 1,5mm de diâmetro interno. Na análise do pH, os tubos foram colocados no interior de

recipientes com água deionizada, onde os valores do pH foram obtidos com o pHmetro às três, 24, 72 e 168 horas após a manipulação dos cimentos. Após a medição, os tubos foram removidos e colocados em frascos com água destilada. Os tubos onde se avaliou a liberação de cálcio foram colocados em recipientes com água destilada, onde a liberação de cálcio foi determinada nos mesmos períodos que o pH. As medidas foram realizadas com um espectrômetro de absorção atômica. Os resultados mostraram que os valores de pH e liberação de cálcio foram altos durante as três primeiras horas, posteriormente houve uma tendência a diminuir. Os valores também foram levemente maiores em todos os períodos para o MTA-Ângelus em comparação com o MTA ProRoot. Com estes resultados os autores concluíram que ambos os cimentos liberam cálcio e promovem um pH alcalino.

AEINEHCHI et al.⁴, em 2003, compararam o MTA (ProRoot) com o hidróxido de cálcio (Dycal) quando usados como capeadores pulpaes em dentes de humanos. Foram empregados 22 terceiros molares superiores de humanos, os quais tinham indicação para extração. Foi realizada uma cavidade na coroa dos dentes até produzir exposição da polpa, a qual foi recoberta com ProRoot ou Dycal. O selamento coronário foi feito com ZOE e amálgama. Um total de 14 dentes foram extraídos, nos seguintes períodos: após uma semana (2 molares), dois meses (3 molares), três meses (5 molares), quatro meses (2 molares) e seis meses (2 molares). Passado esse período, as peças foram preparadas para análise microscópica. Cortes de 10µm foram realizados no sentido vestibulo-palatino em cada peça, e corados por H.E.. Os resultados mostraram menor inflamação, hiperemia e necrose, como também maior espessura da ponte de dentina e maior frequência de formação da camada odontoblástica com o ProRoot do que com o Dycal. O MTA (ProRoot) foi superior ao hidróxido de cálcio (Dycal) quando utilizados como capeador de polpas de dentes humanos.

SUBRAMANIAM et al.¹⁴⁹, em 2003, avaliaram o efeito antimicrobiano do ProRoot. Realizaram dois grupos: no grupo I, foi utilizado o ProRoot preparado com água destilada; no grupo II, o ProRoot foi preparado com clorexidina a 0,12% e no grupo III, empregou-se somente clorexidina. Os

materiais foram colocados em placas com ágar BHI (Brain-Heart-Infusion) inoculadas por *E. faecalis*. Os autores mensuraram as zonas de inibição nestas placas e as compararam entre os três grupos. As mensurações foram registradas às 24, 48 e 72 horas e foram comparadas para observar a significância estatística. Os resultados mostraram que no grupo I houve melhor efeito contra o *E. faecalis* que no grupo II, porém, no grupo III houve melhores resultados que no grupo I.

HAGLUND et al.⁶⁰, em 2003, determinaram o efeito de quatro materiais retroobturadores sobre a morfologia celular, o crescimento celular e a produção de citosinas em fibroblastos e macrófagos. Os autores utilizaram fibroblastos L929 e macrófagos RAW 264 de ratos. Os materiais avaliados foram o MTA, IRM, amálgama e resina composta. Foram utilizados os materiais em dois estados: no grupo I, foi o cimento imediatamente após ser preparado e no grupo II, o material após duas semanas de preparado e conservado a 37°C e 100% de umidade. Os resultados mostraram nos dois grupos, que o efeito dos materiais foi o mesmo para os dois tipos de células utilizadas. O número de células no IRM no grupo I foi significativamente menor em relação aos outros materiais; o MTA e o amálgama apresentaram maior número de células que na resina composta; não houve diferença significativa entre o MTA e o amálgama. No grupo controle, o número de células foi significativamente maior. Na morfologia celular os espécimes do grupo I, apresentaram-se com células mortas, mas também houve um crescimento normal; no caso do amálgama, observaram células reduzidas e irregulares; além desta área observaram-se células com morfologia normal. No caso do IRM e da resina composta, observaram células irregulares na cultura inteira. No grupo II, em relação à morfologia celular, o MTA e o amálgama não produziram reação nenhuma nelas; no IRM observaram células arredondas e flutuantes na cultura inteira e no caso da resina composta as células apresentaram-se irregulares. Finalmente observou-se neste estudo, que não foi detectada a produção de IL-1 β ou IL-6 em nenhum dos materiais avaliados.

MOTTA et al.¹¹⁶, em 2003, avaliaram a resposta tecidual do tecido subcutâneo de ratos frente a implantes de MTA. Os autores avaliaram o MTA e

a pasta de hidróxido de cálcio (Calen). Implantaram tubos de polietileno de 10mm de comprimento com 1,5mm de diâmetro interno contendo os materiais experimentais na região dorsal dos ratos. Os implantes foram divididos em três grupos: no grupo I, foram implantados tubos vazios (controle); no grupo II, tubos contendo pasta Calen e no grupo III, tubos contendo MTA. Os períodos experimentais foram de sete, 14 e 30 dias, posteriormente a estes períodos os animais foram mortos e, os tubos implantados foram removidos em conjunto com o tecido conjuntivo adjacente. As peças foram preparadas para análise microscópica, onde se realizou a coloração com H.E. e a técnica Von Kossa. Os resultados no grupo de controle aos sete primeiros dias, mostraram um infiltrado neutrofílico ao redor dos tubos com células inflamatórias crônicas e fibroblastos jovens na área adjacente; nos períodos de 14 e 30 dias, não foi observada reação inflamatória. No grupo II, se observou aos sete dias, uma reação inflamatória severa; aos 14 dias, a reação ainda se apresentava severa; já aos 30 dias, o processo inflamatório diminuiu e foi considerada leve, com aumento no número de fibroblastos e fibras de colágeno; observaram também áreas positivas para a técnica Von Kossa. No grupo III, observaram aos sete dias uma reação inflamatória moderada com infiltrado mononuclear; aos 14 dias, observou-se menor extensão da reação inflamatória na maioria dos tubos com aumento de fibras colágenas, mas a reação ainda foi considerada moderada. Já no período de 30 dias, observou-se presença de poucas células mononucleares e aumento de número dos fibroblastos e fibras colágenas, onde a reação inflamatória foi considerada leve. Com estes resultados os autores concluíram que o MTA e a pasta Calen apresentam pequena reação inflamatória com a formação de cápsula fibrosa aos seus redores e que somente a pasta Calen apresentou a formação de áreas basófilas calcificadas.

PEREZ et al.¹²², em 2003, analisaram o comportamento de odontoblastos primários e de células do osteossarcoma MG-63 em contato com o MTA ProRoot e o MTA branco. O comportamento foi comparado pela fixação e pela ação osteogênica de ambas as linhagens de células. As células permaneceram expostas aos materiais por períodos de 6, 9 e 13 dias. Os resultados foram avaliados no microscópio eletrônico de varredura, onde se conseguiu observar que o número de células na superfície da placa de cultura,

e sobre o ProRoot MTA aumentou em todas as partes das amostras, nos três períodos de tempo. Já com o MTA branco não foram encontrados osteoblastos primários sobre o material em nenhum dos períodos. Ambos os tipos de células também foram cultivadas e expostas ao β -fosfatoglicerídeo e à dexametasona para avaliar a formação de nódulos de mineralização em consequência de sua ação osteogênica, onde nódulos médios foram observados nas culturas dos osteoblastos primários, mas não foram encontrados nas culturas das células do osteossarcoma MG-63. Os autores concluíram que os osteoblastos primários não permaneceram fixados na superfície do MTA branco por um longo tempo em cultura, e que os osteoblastos primários são mais sensíveis do que as células do osteossarcoma MG-63 para o MTA branco em culturas de células, sendo estas células mais apropriadas para testes de materiais endodônticos *in vitro*.

Em 2003, o efeito neurotóxico de diversos cimentos retroobturadores foi estudado por ASRARI; LOBNER¹³. Os cimentos empregados foram o MTA, amálgama, Super EBA e Diaket, os quais foram divididos em dois grupos. No grupo I, os cimentos recém-manipulados foram colocados em contato com cultura de neurônios. No grupo II, os cimentos foram colocados após sete dias da presa final com a cultura de célula. A morte dos neurônios foi quantificada utilizando o método Assay, pela liberação da enzima citolítica lactato desidrogenase (LDH). Segundo os resultados, após 24h de contato dos neurônios com o MTA, não houve significante morte celular. Já com o amálgama, Super EBA e Diaket houve significante morte celular. Os mesmos resultados repetiram-se quando do contato dos neurônios com os materiais após a presa final aos sete dias.

KOWALSKI et al.⁹⁴, em 2004, avaliaram a resposta histológica ao implante de MTA. Utilizaram 12 ratos da linhagem *Wistar* com peso aproximado de 200 gramas. Foram utilizados 24 tubos de polietileno estéreis com 5mm de comprimento e 1,9mm de diâmetro. Após anestesia dos animais, implantaram-se dois tubos em cada rato, um contendo MTA ProRoot e o outro MTA-Ângelus. Decorridos os tempos experimentais de sete e 60 dias, os animais foram mortos. Os resultados mostraram que ambos os cimentos apresentaram

resultados semelhantes nos dois períodos, onde aos sete dias, mostraram uma resposta inflamatória leve com presença de neutrófilos em pequenas quantidades e predominância de fibras colágenas. Já no período de 60 dias, apresentaram ausência de células inflamatórias, observando-se presença de linfócitos e plasmócitos em pouca quantidade próximos ao material. Baseados nesses resultados os autores concluíram que ambas as marcas comerciais do MTA tiveram comportamento semelhante e os dois produziram reação tecidual satisfatória nos dois tempos experimentais.

YALTIRIK et al.¹⁷⁵, em 2004, avaliaram a biocompatibilidade do MTA e do amálgama. Utilizaram 30 ratos albinos *Wistar* com peso entre 240 e 300 gramas. Foram implantados tubos de polietileno estéreis de 10mm de comprimento por 1,1mm de diâmetro interno, preenchidos com os cimentos experimentais no dorso dos animais. No grupo I, foi testado o MTA; no grupo II, o amálgama e, como controle implantaram 30 tubos de polietileno vazios. Os períodos de avaliação foram de 7, 15, 30, 60 e 90 dias. As peças foram retiradas depois de decorridos os períodos experimentais e foram preparadas para a análise microscópica. Foi utilizada a coloração H.E. e Von Kossa. Os resultados mostraram no grupo I e no período de sete dias, presença de necrose e calcificações distróficas com uma inflamação moderada, com predomínio de macrófagos e células gigantes; aos 15 dias, apresentaram os mesmos resultados, já aos 30, dias foi observada uma fina cápsula fibrosa e calcificações distróficas; o infiltrado inflamatório tinha decrescido. Aos 60 dias, foi observada uma infiltração moderada de macrófagos e células gigantes. Aos 90 dias, não houve infiltrado inflamatório e as calcificações distróficas foram observadas também nestes dois últimos períodos. Já no grupo II, aos sete dias, observaram infiltrado inflamatório moderado com presença de linfócitos e PMNs, o mesmo infiltrado continuou nos 15 dias e diminuiu até os 30 dias. A cápsula fibrosa em volta do tubo foi observada aos 15 dias, mas, foi diminuindo sua espessura até os 90 dias. Neste grupo, não foi observada necrose nem calcificações. Com estes resultados os autores concluíram que a resposta tecidual provocada pelo amálgama e o MTA foi favorável no período de 90 dias.

CAMILLERI et al.²⁵, em 2004, examinaram a morfologia superficial e a biocompatibilidade do MTA. Os autores empregaram dois tipos de MTA, o ProRoot cinza e o ProRoot branco. Para estudar a morfologia superficial, os dois materiais foram colocados em anéis metálicos de 5mm de diâmetro num ambiente de 37° e 100% de umidade durante 1 e 28 dias. Foram realizadas duas amostras de cada cimento para cada período, e foram avaliados na microscopia eletrônica de varredura. A análise da morfologia superficial nos dois períodos foi similar para ambos os cimentos; a superfície dos materiais apresentava-se lisa sem estruturas cristalinas. Os autores avaliaram também a citotoxicidade desses cimentos em culturas de células de osteossarcoma Saos-2. O crescimento destas células foi realizado em placas de cultura mantidas num incubador a 37°C com 5% de dióxido de carbono e 95% de O₂. Os materiais foram preparados e deixados para que tomassem presa por um e 28 dias num incubador a 37°C e 100% de umidade. Depois de decorridos esses tempos, os cimentos foram esterilizados por luz ultravioleta durante 12 horas. Posteriormente, foram colocados nas culturas de células, para serem encubados a 37°C com 5% de dióxido de carbono e 95% de O₂. Como controle foram utilizadas as placas sem cimentos. Após períodos de um, cinco e sete dias, as placas foram cobertas com glutaraldeído ao 2,5% durante 4 horas para produzir a fixação das células. O material foi analisado por meio de microscopia eletrônica de varredura. Segundo os resultados, no grupo das amostras que tinham um dia de preparo, observaram que as células presentes foram cobertas por cristais difusos. No quinto dia foi visível uma monocamada de células sobre ambos os materiais. No sétimo dia, também foi observada uma monocamada de células e algumas células arredondadas também se apresentaram. No grupo das amostras de 28 dias, depois de um dia em contato com as células, houve um crescimento disperso no grupo do MTA cinza e células ocasionais para o MTA branco; após cinco dias, continuava o crescimento disperso das células sobre os cimentos; e após sete dias, observaram um apreciável crescimento celular sobre o MTA cinza e poucas, mas aplanadas células sobre o MTA branco. Os autores concluíram que nas amostras que tinham um dia de preparo, os dois cimentos mostraram-se biocompatíveis e nas que tinham 28 dias os cimentos mostraram-se menos biocompatíveis.

SOUSA et al.¹⁴⁶, em 2004, avaliaram e compararam a reação tecidual do MTA. Para este estudo os autores fizeram comparações entre o ZOE, MTA e a resina composta. Utilizaram-se 30 porcos da Índia, onde, nas suas mandíbulas, implantaram tubos de teflon contendo os cimentos testados. Foram colocados dois implantes do mesmo cimento em cada animal, utilizando assim, 10 animais para cada cimento. Como controle, avaliou-se a reação do tecido que estava em contato com o teflon. Após quatro e 12, semanas os animais foram mortos e as mandíbulas foram removidas e os tecidos adjacentes ao implante foram processados histologicamente, realizando cortes semi-seriados de 5µm de espessura e corados com H.E.. No grupo controle, observaram a formação de novo osso na loja cirúrgica e finas camadas de tecido conjuntivo sem reação inflamatória em todos os períodos. No grupo do ZOE, quatro semanas após a cirurgia, observaram uma reação severa com necrose óssea, reabsorção e infiltrado inflamatório mononuclear composto de linfócitos, macrófagos e células gigantes de tipo corpo estranho; já 12 semanas depois, neste mesmo grupo, observaram reação inflamatória leve, com formação de osso novo. No grupo da resina composta, no período de quatro semanas, observaram uma reação inflamatória de leve a moderada, com formação de tecido conjuntivo rico em fibroblastos entre o material e o osso. No período de 12 semanas, observaram uma reação inflamatória leve. No grupo do MTA, na quarta semana, observaram uma reação inflamatória leve com formação de osso em contato com o material; já na 12ª semana, observaram presença de novo osso contendo osteoblastos em contato com o material. Os autores concluíram que o ZOE foi altamente tóxico durante a quarta semana, mas reduziu até a décima segunda, onde mostrou ser biocompatível. O MTA e a resina composta indicaram biocompatibilidade. O MTA apresentou crescimento ósseo em contato com o material, sem interposição de tecido conjuntivo.

KOULAOUZIDOU et al.⁹³, em 2005, avaliaram o efeito antiproliferativo do MTA, IRM e do ionômero de vidro. Foram empregados três tipos de células: BHK21/C13 (fibroblasto de hamster), L929 (fibroblasto de rato) e RPC-C2A (células pulpares de rato). Os três materiais foram preparados de

acordo às recomendações dos fabricantes e esperou-se que tomassem presa durante 48 horas. Após 48 horas, os cimentos foram esterilizados, colocados nos meios de cultura e incubados durante 12, 24 e 48 horas. Após os períodos experimentais, os cimentos foram removidos e o número de células foi estimado por meio da análise de sulfarodamina-B. Os resultados mostraram que o IRM foi o material mais tóxico em todos os períodos experimentais. O MTA mostrou-se menos citotóxico, semelhante ao ionômero de vidro, mas este mostrou um maior efeito antiproliferativo que o MTA especialmente na linha celular RCP-C2A. Os autores concluíram que o MTA e o ionômero de vidro foram materiais compatíveis; em contraste o IRM mostrou altos níveis de citotoxicidade.

BAEK; PLENK; KIM¹⁴, em 2005, compararam a reação periapical e a regeneração do cimento em cães frente a diversos materiais. Foram utilizados cinco cães da raça Beagle. Após anestesia, foram induzidas lesões periapicais nos molares e pré-molares, onde foi realizada a abertura coronária, eliminação do tecido pulpar, colocação de cones de papel com placa bacteriana dentro dos canais e selados com IRM por duas semanas. A formação das lesões foi observada radiograficamente e formaram-se entre a quarta e a sexta semana. Foi realizado o preparo químico-mecânico, a obturação dos canais e o selamento coronário com IRM de todos os dentes. Posteriormente, foi realizada a apicectomia de 24 dentes os quais foram divididos em três grupos. No grupo I, as retroobturações foram realizadas com amálgama; no grupo II, com Super EBA e no grupo III, com MTA. Quatro meses após as cirurgias parendodônticas, os animais foram mortos e os dentes e tecidos adjacentes foram preparados para análise histológica. Os resultados mostraram que os ápices retroobturados com MTA, exibiam o menor grau de infiltrado inflamatório, onde predominavam as células plasmáticas, linfócitos e alguns macrófagos. No Super EBA, observou-se infiltrado inflamatório moderado com células plasmáticas, linfócitos, macrófagos e alguns PMNs. Por outro lado, os dentes tratados com amálgama, apresentaram infiltrado inflamatório acentuado composto por PMNs, leucócitos, alguns macrófagos e células gigantes de tipo corpo estranho. Também observaram aposição de cimento em crescimento sobre o MTA em quase todos os dentes. O crescimento do cimento ocorreu

significativamente mais no MTA, sendo superior aos outros materiais. Finalmente, foi observada uma cápsula fibrosa ao redor do infiltrado inflamatório nos casos do amálgama e do Super EBA, não sendo assim para o MTA. Segundo os autores o MTA foi o melhor material, seguido pelo Super EBA que foi melhor que o amálgama.

BERNABÉ et al.¹⁶, em 2005, compararam o reparo do tecido periapical em cães induzido por MTA e outros materiais retroobturadores. Foram utilizados 48 pré-molares superiores e inferiores de três cães. Na primeira intervenção, foi realizada a abertura coronária, isolamento absoluto e eliminação do tecido pulpar. As cavidades foram deixadas abertas ao meio oral por um período de seis meses para induzir a formação de lesões perirradiculares. Após seis meses, foi realizada a segunda intervenção, onde foi feita a remoção da lesão apical, a apicectomia das raízes e retroobturações com IRM, Super EBA, MTA e ZOE. Decorrido o período experimental de seis meses os animais foram mortos e os dentes foram processados histologicamente. No grupo do ZOE, observaram reparo completo sem infiltrado inflamatório só em dois dos 10 espécimes, dois espécimes apresentaram resposta inflamatória crônica e dois espécimes apresentaram infiltrado inflamatório crônico e severo. No caso do IRM, quatro de 10 espécimes mostraram reparo completo sem presença de infiltrado inflamatório; seis espécimes apresentaram infiltrado inflamatório crônico e severo com macrófagos, linfócitos, células plasmáticas, leucócitos e microabscessos, também observaram microorganismos Gram-negativos. No grupo do Super EBA, observaram completo reparo em seis dos 10 espécimes; quatro apresentaram infiltrado inflamatório crônico e intenso com presença de linfócitos, células plasmáticas, leucócitos e microabscessos. No grupo do MTA, cinco dos 10 espécimes apresentaram completo reparo sem infiltrado inflamatório e os outros cinco, apresentaram infiltrado inflamatório crônico e intenso com macrófagos, linfócitos, células plasmáticas, leucócitos e microabscessos. Os autores concluíram que o MTA, Super EBA, IRM têm resultados histopatológicos semelhantes e apresentam melhor desempenho que o ZOE.

RESENDE et al.¹²⁷, em 2005, analisaram a ação de dois tipos de MTA, o MTA ProRoot e o MTA-Ângelus. Os cimentos foram preparados segundo as indicações do fabricante e inseridos em tubos capilares esterilizados. Após a presa final os tubos foram esterilizados com irradiação gamma. Macrófagos M1 e M2 foram obtidos da cavidade peritoneal de dois ratos. Para avaliar a viabilidade celular na presença do MTA, os capilares contendo MTA foram adicionados na suspensão celular presente em 24 placas, as células foram encubadas por 24, 48 e 72 horas. Para induzir a formação de fator de necrose tumoral (TNF), IL-12 e IL-10, *Fusobacterium nucleatum* e *Peptostreptococcus anaerobius* foram preparados e usados na proporção de 10 UFC para cada macrófago em cultura. Os resultados da viabilidade celular mostraram que não houve diferença porcentual de células vivas entre os dois cimentos, no entanto a produção de macrófagos M2 (no período de 24 horas de exposição do MTA-Ângelus) foi estatisticamente maior que a dos macrófagos M1. A produção de TNF- α não foi influenciada pela presença dos cimentos. Nenhum dos cimentos influenciou na produção de IL-12 nem IL-10. Os autores concluíram que o MTA tem excelentes resultados em relação à viabilidade celular e não interfere com a produção e secreção das citocinas TNF, IL-12 e IL-10.

ELDENIZ et al.⁴⁴, em 2006, avaliaram, *in vitro*, a atividade antibacteriana do MTA. Os autores avaliaram os seguintes materiais: MTA ProRoot, amálgama, IRM, Super Bond C&B, Geristore, Dyract, resina composta (Celarfil APX) e Protect Bond. A atividade antibacteriana foi avaliada contra o *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os materiais foram avaliados em duas etapas, a primeira foi imediatamente após o seu preparo, e a segunda três dias após os materiais tomarem presa. Esses materiais foram colocados em placas de cultura; posteriormente 10 microlitros de suspensão bacteriana foram colocados nas placas para contato direto com cada material durante 1 hora a 37°C. O crescimento bacteriano foi medido por espectrofotometria, de uma em uma hora. Os resultados mostraram que o IRM e o ProRoot mostraram maior atividade antibacteriana em comparação com os outros materiais. Estes cimentos mostraram completa inibição contra o *P. aeruginosa* e crescimento

limitado do *E. faecalis*. Também observaram que o IRM obteve melhores resultados frente ao *S. aureus* em comparação com o ProRoot. Os autores concluíram que o IRM e o MTA ProRoot apresentaram inibição mais potente no crescimentos bacteriano em relação aos outros materiais avaliados.

AL-HEZAIMI et al.⁵, em 2006, compararam, *in vivo*, o efeito inibitório de varias concentrações de MTA contra a *Cândida albicans*. Foram utilizados os cimentos MTA ProRoot branco e cinza, os quais foram preparados em concentrações de 50; 25; 12,5; 6,25 e 3,125 mg/ml diluídos em água destilada e colocados em tubos. Cada grupo experimental estava formado por 11 tubos. Tubos vazios serviram como controle negativo e tubos com microorganismos, mas sem material no seu interior, serviram como controle positivo. Posteriormente, todos os tubos foram encubados a 37°C e avaliados nos períodos de 0, 1, 24, 48, 72 e 168 horas. Os resultados mostraram correlação direta entre as concentrações de MTA, tanto no branco como no cinza, e seu efeito inibidor contra *Cândida albicans*. No período 0, ambos os cimentos mostraram crescimentos de *C. albicans* em todas as concentrações. Já nos outros períodos avaliados, os tubos com MTA cinza, em todas as concentrações não apresentaram crescimento de *C. albicans*. Nestes mesmos períodos, os tubos com MTA branco nas concentrações de 50 e 25 mg/ml também não mostraram crescimento de *C. albicans*, mas, os tubos com MTA branco nas concentrações de 12,5; 6,25 e 3,125 mg/ml mostraram crescimento de *C. albicans* em todos os períodos testados. A maior diferença estatística esteve entre o MTA cinza e o MTA branco nas concentrações de 12,5; 6,25 e 3,125 mg/ml. Os autores concluíram que o MTA cinza e o MTA branco em concentrações de 50 e 25 mg/ml são efetivos contra a *Cândida albicans* por períodos até de uma semana. Concentrações baixas de MTA cinza podem ser efetivas, mas o MTA branco não.

Em 2006, CINTRA et al.³², compararam as propriedades biológicas do MBPc com as do MTA. Foram empregados 48 ratos *Wistar* divididos em três grupos iguais, onde foi implantado no alvéolo dos ratos tubos de polietileno preenchido com materiais retroobturadores. No grupo I, implantou-se MTA; no grupo II, MBPc e no grupo III, eram implantados tubos vazios como controle.

Após a anestesia, foi realizada a extração do incisivo superior direito, os implantes eram inseridos no alvéolo e posteriormente suturados. Decorridos os períodos experimentais de 7, 15 e 30 dias os animais foram mortos e as amostras foram processadas para a avaliação histológica. No período de sete dias, o MTA apresentou uma camada superficial com espessura irregular e áreas de necrose. Já aos 15 dias, observaram áreas basofílicas irregulares, a qual provavelmente poderia servir como matriz para mineralização, que foi também vista aos 30 dias. O MBPc aos dias sete e 15 dias, apresentou infiltrado inflamatório leve, com presença de jovens fibroblastos e novos vasos sanguíneos. No período de 30 dias, observaram formação de osso, mas a reparo do alvéolo não foi completo. O grupo controle mostrou, nos períodos de sete e 15 dias, uma área preenchida com tecido de granulação bem organizado com infiltrado inflamatório leve. Já aos 30 dias, o tecido conjuntivo foi bem organizado. Os autores concluíram que o MTA e MBPc apresentaram comportamento similar, a diferença foi no tecido mineralizado.

SHAHI et al.¹³⁹, em 2006, avaliaram a biocompatibilidade do MTA cinza, MTA branco e amálgama no tecido subcutâneo de ratos. Foram utilizados 45 ratos com peso aproximado de 250 gramas. Após anestesia dos animais implantaram no dorso, tubos de polietileno de 8mm de comprimento por 0,8mm de diâmetro interno, preenchidos com os materiais experimentais. Cada rato recebeu um tubo com MTA cinza, um com MTA branco, um com amálgama e um tubo vazio que serviu como controle. As avaliações foram realizadas 3, 7 e 21 dias após a implantação. Os resultados mostraram que após os período de três e sete dias, o amálgama produziu uma resposta inflamatória mais severa comparada com os MTAs. Aos três dias, a resposta inflamatória ao redor do MTA cinza foi mais severa em comparação com o MTA branco, mas, após sete dias este resultado foi invertido. Após 21 dias, a resposta inflamatória de todas as amostras foi igual à do grupo controle, com presença de um infiltrado de células crônicas de leve a moderado.

CHACKO; KURIKOSE³⁰, em 2006, analisaram histologicamente a polpa dental após a pulpotomia e proteção com MTA e hidróxido de cálcio. Neste estudo empregaram 32 dentes de 10 pacientes entre 11 a 14 anos. Os

dentes foram divididos em dois grupos: no grupo I, foi empregado o hidróxido de cálcio em 15 dentes e no grupo II, foi utilizado o MTA em 16 dentes. Após quatro e oito semanas os dentes foram extraídos e, preparadas secções longitudinais coradas com H.E. para a análise microscópica. No período de quatro semanas, observaram que no grupo I, seis de oito espécimes apresentaram inflamação moderada enquanto os outros dois tinham inflamação severa; no grupo II, seis dos oito espécimes não apresentaram inflamação e os outros dois apresentaram inflamação leve. Neste mesmo período, observaram nos dois grupos, formação de uma ponte dentinária, sendo de maior espessura no grupo II. No período de oito semanas, no grupo I, a resposta inflamatória de seis dos sete espécimes foi moderada, enquanto no outro espécime era severa; no grupo II, seis dos oito espécimes não apresentaram inflamação e os outros dois mostraram inflamação leve. Neste período também observaram formação da ponte dentinária em todas as amostras, sendo de maior espessura no grupo I. Os autores concluíram que o MTA deu uma resposta mas previsível e positiva nos procedimentos das pulpotomias em relação ao hidróxido de cálcio.

SUMER et al.¹⁵⁰, em 2006, avaliaram a biocompatibilidade do amálgama, IRM, MTA e MTA com clorexidina no tecido subcutâneo de ratos. Foram utilizados 30 ratos *Wistar* com peso aproximado de 270 gramas. Os materiais foram colocados em tubos de polietileno estéreis de 10mm de comprimento por 1,1mm de diâmetro interno e implantados no tecido subcutâneo da região dorsal dos animais. Cada animal recebeu cinco implantes, um com cada cimento e o quinto vazio que serviu como controle. Após os períodos experimentais de 15, 30 e 60 dias, os animais foram mortos e as amostras foram coletadas e processadas histologicamente. Nos resultados, os autores observaram uma resposta inflamatória leve nas amostras com amálgama, IRM e MTA com clorexidina nos três períodos. O MTA provocou uma resposta inflamatória inicial severa, que foi diminuindo até os 30 e 60 dias. Segundo os autores, isto pode ter acontecido pelo pH alto que o material apresenta e a geração de calor produzida enquanto o cimento toma presa. A formação da cápsula fibrosa foi observada desde o 15º dia em todos os grupos, o que indica que os materiais são bem tolerados pelos tecidos. Os autores

concluíram indicando que o MTA com clorexidina pode ser considerado biocompatível.

2.3 Sobre o cimento Portland e as suas comparações com o MTA

Em 1999, WUCHERPFENNIG; GREEN¹⁷⁴ publicaram um abstract, no qual relatavam que o MTA e cimento Portland tinham características e propriedades semelhantes. Segundo os autores, ambos eram compostos principalmente por cálcio, fosfato e sílica. Macroscopicamente, microscopicamente e pela análise da difração de raios X, ambas as substâncias pareceram idênticas. Para avaliar a biocompatibilidade dos cimentos em questão, utilizaram culturas de células osteoblásticas (MG-63), que permaneceram em contato com os materiais por períodos de 4 e 6 semanas. Os resultados mostraram que ambos os materiais promoveram de forma semelhante a formação de matriz mineralizada. Ratos adultos também foram empregados no estudo da biocompatibilidade, onde após provocar a exposição pulpar nos molares foi realizado o capeamento pulpar. Após os períodos experimentais de 1, 2, 3 e 4 semanas, os animais foram mortos e os dentes foram preparados para análise microscópica. Os resultados mostraram que ambos os materiais tem efeito semelhante nas células da polpa. Foi observada deposição de dentina reparadora de alguns espécimes já na segunda semana, tanto com o cimento Portland como com o MTA. Com estes resultados os autores concluíram que o cimento Portland pode ser um ideal cimento como o MTA.

No ano seguinte, ESTRELA, et al.⁴⁷ (2000), investigaram a capacidade antimicrobiana do MTA, cimento Portland, pasta de hidróxido de cálcio, Sealapex e Dycal e analisaram os elementos químicos do MTA e dois cimentos Portland. Para avaliar a atividade antimicrobiana utilizaram quatro tipos de cepas bacterianas: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus subtilis*. Também foi empregado neste estudo um tipo de fungo: a *Cândida albicans*. Inicialmente realizaram o teste de difusão e inibição em ágar. Os resultados mostraram que apenas o hidróxido de cálcio promoveu halos de inibição de seis a 9,5mm. Já os demais cimentos

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

SAFAVI; NICHOLS¹³¹, em 2000, compararam os efeitos do MTA e o cimento Portland na secreção de PGE₂ de monócitos. Os autores utilizaram monócitos provenientes de sangue fracionado e incubados a 37° e na presença de 5% CO₂ por duas horas. Em seguida procederam à nova incubação agora contendo os materiais por 24 horas. Os níveis de prostaglandina (PGE₂) foram mensurados. Os autores utilizaram como controle positivo o LPS (*Salmonella typhimurium*). Os autores concluíram que houve uma diminuição da produção de PGE₂ em contato com os cimentos. Segundo eles, isso se deve à solubilidade de alguns produtos contidos em ambos os cimentos. Concluíram ainda, que tanto o MTA como os cimentos Portland possuem semelhante efeito inibitório da formação de prostaglandina pelos monócitos.

A reação do tecido conjuntivo de ratos frente ao MTA, cimento Portland e hidróxido de cálcio, foi avaliada por HOLLAND et al.⁷² (2001). Neste estudo foram utilizados 40 ratos. Foram preparados tubos de dentina de raízes de dentes humanos, onde os canais foram alargados com uma lima tipo K nº 35 sobre-instrumentando o forame apical por 2mm. Os tubos eram de 7mm de comprimento e suas paredes eram de 0,5mm. Após a esterilização dos tubos,

eles foram preenchidos com MTA, cimento Portland e hidróxido de cálcio e implantado no dorso dos animais. Os períodos experimentais foram de sete e 30 dias. Decorridos estes tempos os animais foram mortos e os tubos conjuntamente aos seus tecidos adjacentes foram removidos, processados e avaliados microscopicamente. Os resultados foram semelhantes para os três cimentos avaliados. Todos os espécimes apresentaram inflamação crônica moderada tanto aos sete como nos 30 dias. Perto das embocaduras dos tubos foram observadas granulações Von Kossa positivas, birrefringentes à luz polarizada, e junto a elas um tecido irregular na forma de ponte. Os autores concluíram que o óxido de cálcio contido no MTA, e, possivelmente no cimento Portland, seja o responsável pela formação destas granulações, reação esta que também ocorre com o hidróxido de cálcio, levando-os a crer que o mecanismo da indução de tecido mineralizado do MTA e do cimento Portland possivelmente seja o mesmo do hidróxido de cálcio.

No mesmo ano (2001), HOLLAND et al.⁷⁰, avaliaram a resposta da polpa, em pulpotomias protegidas com MTA e cimento Portland. Foram empregados 18 dentes de um cão, totalizando 26 raízes. As exposições pulpares receberam MTA ou cimento Portland e as cavidades foram restauradas com ZOE e amálgama. Sessenta dias depois, os animais foram mortos, as peças foram removidas e preparadas para análise microscópica. Foram realizados cortes seriados de 6µm corados com H.E. e Brown-Brenn. Os detalhes considerados foram a formação de tecido mineralizado e a reação inflamatória. Os resultados mostraram que o MTA e o cimento Portland induziram a formação de pontes de tecido mineralizado. As polpas dentais apresentaram reação inflamatória crônica moderada. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois cimentos.

No ano 2002, GUARIENTI; OSINAGA; FIGUEIREDO⁵⁹ analisaram por meio de microscópio eletrônico de varredura e energia dispersiva de raios-X, a microestrutura superficial e a composição química do MTA e duas marcas comerciais de cimento Portland. Após manipulação dos cimentos e inserção em moldes, os corpos de prova foram armazenados ao abrigo da luz por 38 dias, quando então foram removidos e submetidos ao exame. Os resultados

mostraram que a superfície dos corpos de prova dos cimentos possui a mesma estrutura microscópica, com exceção do bismuto. Os principais constituintes do MTA foram encontrados em ambas as marcas de cimento Portland, com pequenas diferenças nas suas quantidades.

SAIDON et al.¹³², em 2002, compararam a reação tecidual óssea do ProRoot (MTA) e do cimento Portland. Empregaram 30 porcos da Índia. Os animais foram anestesiados e foram realizadas cavidades ósseas bilaterais na mandíbula. Nessas cavidades foram implantados tubos de politetrafluoretileno (teflon) preenchidos com os cimentos experimentais. Cada animal recebeu dois implantes, um com MTA e o outro com cimento Portland. Os períodos experimentais foram de duas e 12 semanas. Em ambos os períodos e materiais testados, observaram a presença de novo osso com uma resposta inflamatória mínima. Os autores concluíram, que os resultados obtidos indicam que o ProRoot e o cimento Portland foram bem tolerados quando implantados no osso mandibular.

No mesmo ano (2002), DEAL et al.³⁵, compararam as propriedades química e física do ProRoot (MTA), do cimento Portland e de um novo material experimental; o MTA de presa rápida. A análise química foi realizada com o auxílio de espectroscopia de energia dispersa. O pH foi avaliado imediatamente após a mistura dos cimentos, aos cinco e 30 minutos. Os tempos de presa foram avaliados de acordo com a especificação nº 96 da ANSI/ADA. Nos resultados da análise química observaram que os três cimentos apresentavam os mesmos elementos químicos. O pH dos cimentos, após a mistura, foi de 11,72 para o ProRoot, de 11,74 para o cimento Portland e de 11,69 para o cimento experimental de presa rápida. Após 30 minutos da mistura, o pH dos cimentos foi o mesmo para o ProRoot e o cimento Portland (12,3). O tempo de presa final para o ProRoot foi de 156 minutos, para o cimento Portland 159 minutos e para o cimento experimental de presa rápida 17 minutos. Os autores concluíram que o MTA de presa rápida apresentou propriedades químicas semelhantes ao ProRoot e cimento Portland, com a vantagem de tomar presa em menor tempo.

FUNTEAS; WALLACE; FOCHTMAN⁵⁵, em 2002, compararam a composição do cimento Portland com a do MTA. Os autores empregaram um espectrômetro por indutibilidade de plasma acoplado (ICP-ES). A análise comparativa revelou que houve similaridade significativa, já que, dos 15 elementos, em 14 não houve diferença significativa entre o MTA e o cimento Portland; a diferença estava no bismuto que não pôde ser quantificado no cimento Portland.

DUARTE et al.³⁸, em 2002, investigaram a contaminação existente no MTA e no cimento Portland. Os materiais testados foram o MTA-Ângelus cinza e branco sem estarem esterilizados e o cimento Portland (Votoran, Votorantim, São Paulo, Brasil) de um saco recém-aberto e de um aberto há dois meses. No teste bacteriológico, as amostras dos cimentos testados foram inoculadas assepticamente em 3mL de caldo BHI mantidas em estufa a 37°C durante 24 horas. Posteriormente, os tubos foram homogeneizados e as amostras foram plaqueadas e colocadas em diversos meios para o crescimento de *Gram+*, *Gram-*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* e *Enterococcus faecalis*. No teste micológico, as amostras foram encubadas em 3mL de caldo Sabouraud acrescido de cloranfenicol e foram mantidas na estufa a 25°C durante 72 horas. Decorrido esse tempo, os tubos foram homogeneizados e as amostras foram plaqueadas em diversos meios. As placas foram incubadas em estufa micológica a 25°C por 15 dias e analisadas para crescimentos de bolores e fungos. Os resultados mostraram que não houve crescimento de microorganismos. Com estes resultados, os autores concluíram que o MTA-Ângelus e o cimento Portland não apresentam contaminação.

ABDULLAH et al.¹, em 2002, investigaram a biocompatibilidade de duas variantes do cimento Portland com acelerador (CPA) por meio da observação da citomorfologia de células de osteosarcoma (SaOS-2) na presença dos materiais testados e o efeito desses materiais na expressão de marcadores da remodelação óssea. Foram utilizados para comparação o cimento de ionômero de vidro (CIV), o MTA, e o cimento Portland (CP) não modificado. Um ensaio de contato direto foi realizado em quatro amostras para cada material em teste, coletadas com 12, 24, 48 e 72 horas. A morfologia

celular foi registrada utilizando microscopia eletrônica de varredura (SEM). A análise microscópica mostrou células SaOS-2 saudáveis aderidas às superfícies das variantes do CPA, do CP e MTA. Em contraste, células arredondadas, em processo de morte celular, foram observadas junto ao CIV. O teste de ELISA mostrou níveis significativamente elevados de IL-1 β , IL-6, IL-18 nas variantes do CPA comparado com os controles e CIV ($p < 0.01$), no entanto esses níveis de citocinas não foram estatisticamente significantes quando comparados com o MTA. Sugeriram que as duas variantes do CPA não são tóxicas e possuem potencial para promover o reparo ósseo, mas estudos futuros sobre o CPA devem ser realizados com o intuito de desenvolver um possível material restaurador e para uso ortopédico.

SAIDON et al.¹³³, em 2003, compararam o efeito citotóxico *in vitro*, em cultura de células L929 e, *in vivo*, a reação do tecido ósseo de cobaias, após implantação de ProRoot MTA e cimento Portland. Para o estudo *in vitro*, os materiais em teste foram colocados em dois momentos: o primeiro imediatamente após o preparo dos materiais e o segundo após a presa. Foram incubados por três dias, onde observaram a morfologia e contaram as células. Para o estudo *in vivo*, realizaram duas cavidades ósseas nas mandíbulas de 28 cobaias e implantaram recipientes de teflon preenchidos com os materiais recentemente misturados. Os animais receberam um implante de ProRoot MTA e um de cimento Portland e foram mortos depois de duas e 12 semanas. Não houve diferença nas reações celulares *in vitro* entre os dois cimentos, observaram células mortas no grupo onde os cimentos foram colocados imediatamente após o preparo dos materiais, com crescimento celular nos arredores; no grupo onde avaliaram os materiais após a presa não houve efeito nas células. No estudo *in vivo*, foi observado tecido ósseo saudável e mínima resposta inflamatória adjacente aos implantes de ProRoot MTA e cimento Portland, sugerindo que ambos os materiais são biocompatíveis.

A biocompatibilidade do cimento Portland no tecido subcutâneo de ratos foi analisada por CAMPOS QUINTANA; LLAMOSAS HERNANDEZ; MORALES DE LA LUZ²⁸ em 2003. Utilizaram neste estudo, 10 ratos *Wistar* com peso aproximado de 120 a 150 gramas e tubos de polipropileno de 4mm

de comprimento preenchidos com o cimento Portland, que foi preparado numa proporção de 3:1 (pó/liquido) com solução anestésica. Após a anestesia dos animais, implantaram na região dorsal dois tubos, um contendo o cimento Portland e o outro vazio, que serviu como controle. Decorridos os períodos experimentais de 8, 15, 30 e 45 dias, os animais foram mortos. Os resultados mostraram que não houve diferença entre o grupo experimental e o controle. Ambos os grupos apresentaram polimorfonucleares aos oito dias e nos períodos de 15, 30 e 45 dias observaram macrófagos e células linfóides. Os autores concluíram que o cimento Portland não provocou uma reação adversa no tecido subcutâneo de ratos e que os tubos de polipropileno produziram uma reação alérgica.

TRINDADE; OLIVEIRA; FIGUEIREDO¹⁶⁷, em 2003, avaliaram o comportamento biológico do cimento Portland, isolado e acrescido de óxido de bismuto em diferentes proporções, em comparação ao ProRoot MTA. Foram utilizados 30 ratos da linhagem *Wistar* com peso aproximado de 200 gramas, divididos em três grupos de 10 animais. Os períodos experimentais foram de 7, 15 e 30 dias. Cada animal recebeu quatro tubos de polietileno estéreis de 10mm de comprimento por 1,3mm de diâmetro interno, preenchidos com os cimentos experimentais: ProRoot MTA, cimento Portland, cimento Portland acrescido com 20% de óxido de bismuto e cimento Portland acrescido com 30% de óxido de bismuto. Os tubos foram implantados no tecido subcutâneo do dorso dos ratos. Os resultados mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os materiais testados, em todos os períodos experimentais. O grau de inflamação geral diminuiu significativamente no decorrer dos tempos experimentais em todos os materiais avaliados.

A avaliação pulpar em dentes de cães frente ao MTA e cimento Portland foi realizada por MENEZES et al.¹⁰⁶ em 2004. Foram utilizados 76 dentes de quatro cães da raça *Mongrel*. Depois de anestesiados os animais, foram realizadas as aberturas coronárias e remoção da polpa coronária. Procederam a realização da proteção pulpar com MTA-Ângelus, MTA ProRoot, cimento Portland cinza (Votoran) e cimento Portland branco (Irajazinho). Empregou-se um total de 19 dentes para cada material. As cavidades foram

restauradas com Coltosol e amálgama. Decorrido o período experimental de 120 dias, os animais foram mortos e secções da mandíbula foram retiradas e preparadas para avaliação microscópica. Os resultados observados para os quatro materiais foram semelhantes com a formação de tecido mineralizado no terço coronário da raiz. O tecido pulpar se apresentou normal e livre de células inflamatórias; não houve presença de necrose. Segundo os autores, ambos os cimentos apresentaram efeitos biológicos idênticos, pelo qual, o cimento Portland aparece como uma alternativa ao MTA, já que o custo do MTA é demasiado alto.

BORTOLUZZI¹⁸, em 2005, avaliou a biocompatibilidade do MTA e cimento Portland. Utilizou 36 ratos machos da linhagem *Wistar*, que receberam implantes de tubos de polietileno preenchidos com os cimentos: ProRoot MTA branco, MTA-Ângelus branco com óxido de bismuto, MTA-Ângelus branco com sulfato de bário e cimento Portland branco (Irajazinho). Cada animal recebeu quatro tubos na região dorsal, com os quatro cimentos experimentais e que continham numa das extremidades guta-percha, que serviu como controle. Após períodos de 15, 30 e 60 dias os animais foram mortos e as amostras preparadas para análise microscópica. Os resultados mostraram que todos os materiais testados apresentaram comportamento biológico semelhante. A resposta do tecido subcutâneo foi de uma inflamação crônica, que no princípio era mais intensa e com o passar do tempo tornou-se mais discreta, sinalizando a biocompatibilidade dos materiais.

CAMILLERI et al.²⁷, em 2005, analisaram a constituição do MTA e do cimento Portland. Ambos os cimentos foram preparados formando uma pasta homogênea e foram compactados em moldes metálicos de 5mm de diâmetro. Esperaram que os cimentos tomassem presa mantendo-os em umidade de 100%. Depois de seis horas, os espécimes foram removidos dos moldes, colocados em placas de cultura de células e mantidos por três dias numa temperatura de 37°C. Após três dias, as amostras que serviram como controle foram mantidas em 100% de umidade a 37°C. Outras amostras foram imersas em água por quatro horas, seguido por secagem de 12 horas. As últimas amostras foram imersas em solução de fosfato por quatro horas.

Posteriormente, os espécimes foram observados por microscopia eletrônica de varredura (SEM) para realizar a análise da superfície. A análise de energia dispersiva por raios-X (EDAX) foi utilizada para a análise química. Os resultados mostraram que ambos os materiais apresentaram uma superfície lisa quando foram imersos em água. A presença de cristais na superfície dos materiais foi somente vista quando os materiais foram imersos na solução de fosfato. A análise química mostrou a presença de fósforo em ambos os materiais depois de terem sido colocados na solução de fosfato. O MTA e o cimento Portland mostraram uma constituição similar, exceto pela presença de bismuto no MTA.

DUARTE et al.⁴⁰, em 2005, determinaram a liberação de arsênio do MTA e o cimento Portland. Os materiais testados foram o cimento Portland cinza Votoran, cimento Portland cinza Ribeirão, cimento Portland branco Irajá, ProRoot MTA e MTA-Ângelus. Os cimentos avaliados foram inseridos em tubos plásticos de 10mm de comprimento por 1,5mm de diâmetro. Os tubos contendo os cimentos foram colocados em frascos contendo 25mL de água. O pH da água foi previamente ajustado a 5.0. A água foi gasificada para garantir que o arsênio fosse liberado em forma de arsênio III. Os tubos foram mantidos na solução por um período de três horas, posteriormente foram transferidos para outros frascos que continham a mesma solução por 168 horas mais. Posteriormente, as soluções foram analisadas quantitativamente com espectrofotômetro de absorção atômica. Os resultados mostraram níveis baixos de liberação de arsênio nos materiais depois de três e 168 horas. Os níveis mais altos foram apresentados pelo cimento Portland Votoran, mas não houve diferença estatisticamente significativa entre todos os materiais. Todos os níveis apresentados pelos cimentos estão abaixo dos níveis de toxicidade. Os autores concluíram que as concentrações de arsênio nos cimentos Portland e nos MTA é baixa e similar, demonstrando a não contra-indicação para o uso destes materiais na prática clínica em relação a este químico.

RIBEIRO et al.¹²⁹, em 2005, avaliaram *in vitro* os efeitos genotóxicos do MTA e cimento Portland. Foi utilizada a célula do linfoma de rato L5178Y. Os materiais avaliados foram o MTA-Ângelus, cimento Portland cinza Votoran e

cimento Portland branco Votoran, sendo avaliados os efeitos genotóxicos e citotóxicos destes cimentos. Os resultados mostraram que os cimentos avaliados não demonstraram alteração no DNA das células e também se observou que nenhum dos componentes do MTA e dos cimentos Portland foram citotóxicos. Com estes resultados, os autores concluíram que se respalda a utilização do MTA e os cimentos Portland na prática dental.

DAMMASCHKE et al.³⁴, em 2005, compararam as propriedades químicas e físicas do MTA ProRoot branco e dois cimentos Portland. A composição foi avaliada pela análise de espectroscopia fotoeletrônica de raios-X (XPS) e pela análise de energia dispersiva de raios-X (EDAX). A composição química da superfície dos cimentos foi avaliada pela microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os resultados mostraram que o ProRoot apresentou a metade de sulfato de cálcio que contém os cimentos Portland, fato que prolonga o tempo de trabalho no cimento Portland. No ProRoot branco observaram também menores quantidades de ferro e magnésio, o que contribui na cor branca do ProRoot branco e que são os responsáveis da cor cinza dos cimentos Portland, já que foram detectados neles. Os autores concluíram que o ProRoot e o cimento Portland são obviamente similares, mas que o MTA não pode simplesmente ser substituído pelo cimento Portland como foi sugerido por outros autores.

SIPERT et al.¹⁴³, em 2005, determinaram, *in vitro*, a atividade antimicrobiana do MTA e do cimento Portland. Foram empregados os cimentos MTA-Ângelus, cimento Portland, Sealapex, EndoRez e Fill Canal. A atividade antimicrobiana destes materiais foi avaliada utilizando o método de difusão em ágar Muller-Hinton (MH). Foi realizada uma camada com ágar MH e cinco cavidades foram realizadas em pontos eqüidistantes. Imediatamente após a manipulação dos cimentos, eles foram colocados nessas cavidades. Posteriormente, cultivaram nestas placas os microorganismos: *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Cândida albicans*. As placas foram mantidas durante 2 horas em temperatura ambiente e posteriormente incubadas a 37°C durante 24 horas. Finalmente, as zonas de

inibição foram mensuradas. Os resultados mostraram que o Fill Canal e o Sealapex mostraram evidência de inibição no crescimento de todos os microorganismos. O MTA e o cimento Portland não conseguiram inibir o crescimento do *E. coli*. O EndoRez não demonstrou atividade antimicrobiana.

CHNG et al.³¹, em 2005, dentro da avaliação de várias propriedades dos cimentos à base de MTA, estudaram o tempo de presa do MTA ProRoot cinza, MTA ProRoot branco e um cimento experimental à base de cimento Portland. Os autores avaliaram os tempos de presa inicial e final. Para isto empregaram agulhas de Gillmore. Os resultados mostraram que os menores valores de tempo de presa inicial foi no cimento experimental com 40 minutos, seguido pelo MTA ProRoot branco com 45 minutos e finalmente o MTA ProRoot cinza com 70 minutos. O tempo de presa final foi de 140 minutos para o cimento experimental e o MTA ProRoot branco; já o MTA ProRoot cinza apresentou um tempo de 175 minutos.

DE DEUS et al.³⁶, em 2005, avaliaram, *in vitro*, a citotoxicidade do ProRoot MTA, MTA-Ângelus e o cimento Portland, por meio da viabilidade metabólica de cultura de células endoteliais (ECV 304). As células endoteliais foram incubadas a 37°C num ambiente de 95% de ar e 5% de dióxido de carbono e 100% de umidade durante sete dias. Os materiais foram manipulados e adaptados em cilindros padronizados de 4x3mm e colocados nas culturas de células por períodos de 24, 48 e 72 horas. O grupo controle não foi exposto aos cimentos. Os resultados mostraram que após 24 horas, todos os cimentos apresentaram-se mais citotóxicos que o grupo controle e não houve diferença estatisticamente significativa entre os três cimentos testados. Após 48 e 72 horas, todos os materiais exibiram um efeito inibitório leve na viabilidade celular; não houve diferença significativa entre os três materiais em teste. Os autores concluíram que as duas amostras de MTA e o cimento Portland inicialmente mostraram um elevado efeito de citotoxicidade, mas ele foi gradativamente decrescendo com o decorrer do tempo, e que a reação celular foi a mesma nos três cimentos para os três períodos experimentais.

CAMILLERI et al.²⁶, em 2005, avaliaram a constituição química e biocompatibilidade do MTA e do cimento Portland. Os cimentos empregados foram o MTA cinza e branco, o cimento Portland cinza e branco e um cimento Portland experimental de presa rápida (sem gesso). Para a análise da constituição química empregaram a análise de energia dispersiva por raios-X (EDAX), onde os espécimes foram vistos pela microscopia eletrônica de varredura (SEM). A biocompatibilidade desses cimentos foi avaliada quanto à proliferação celular, tanto em contato direto quanto em contato indireto com os materiais. Os resultados mostraram que a constituição química de todos os materiais foi similar, já que todos os cimentos estão compostos principalmente por cálcio, silício e alumínio. Os materiais brancos se diferenciaram dos materiais cinzas, pela ausência de ferro nos brancos. Os MTAs se diferenciaram dos cimentos Portland pela presença de bismuto nos MTAs. A atividade celular mostrou que no teste de contato indireto dos materiais houve um incremento na atividade celular após as 24 horas. Já na avaliação por contato direto, os cimentos apresentaram uma diminuição da viabilidade celular. Os autores concluíram que o tempo de presa do cimento Portland foi reduzido pela exclusão do gesso. A diferença entre os MTAs e os cimentos Portland foi dada pelo óxido de bismuto, coisa que não interfere na biocompatibilidade. O hidróxido de cálcio produzido durante a hidratação dos cimentos, induziu a proliferação celular.

RIBEIRO et al.¹³⁰, em 2006, avaliaram a genotoxicidade do MTA e do cimento Portland, *in vivo*. Os materiais utilizados foram o MTA-Ângelus, o cimento Portland cinza Votoran e o cimento Portland branco Votoran, onde os cimentos foram expostos às células de ovário de hamsters e, utilizaram um sistema de análise automatizado para determinar o dano do DNA. Os resultados mostraram que todos os cimentos testados não mostraram efeitos genotóxicos. Os autores concluíram que estes resultados podem ser argumentos adicionais para respaldar o uso do MTA e cimento Portland na prática dental.

ISLAM; CHNG; YAP⁸¹, em 2006, avaliaram o tempo de presa do MTA e cimento Portland. Os materiais empregados foram o MTA ProRoot

cinza, MTA ProRoot branco, cimento Portland cinza e cimento Portland branco. Para avaliar e comparar os tempos de presa iniciais e finais, os autores utilizaram a metodologia com as agulhas de Gillmore. Os resultados mostraram que na presa inicial, os dois cimentos brancos obtiveram o menor tempo (40 minutos) e os dois cimentos cinzas obtiveram o maior tempo (70 minutos). O tempo de presa final menor foi dado pelo cimento Portland branco que foi 135 minutos, seguido pelo MTA ProRoot branco com 140 minutos. O cimento Portland cinza demorou 170 minutos para obter sua presa final, e o cimento com maior tempo de presa foi o MTA ProRoot cinza com 175 minutos.

VASCONCELOS¹⁶⁹, em 2006, avaliou o tempo de presa de cimentos à base de MTA. Foram estudados o ProRoot MTA cinza, o MTA-Ângelus cinza, o MTA-Ângelus branco, o CPM, um MTA experimental e o MBPc (cimento resinoso). A avaliação foi realizada num ambiente com temperatura de 37°C e umidade controlada de 95%. Os materiais foram manipulados e inseridos em anéis metálicos de 10mm de diâmetro e 2mm de espessura, posteriormente empregou a técnica das agulhas de Guillmore. Os resultados mostraram que o tempo de presa inicial foi maior para o MBPc com 121m, seguido pelo MTA experimental com 28m, o CPM com 22m, o ProRoot com 15m, o MTA-Ângelus cinza com 8m e o MTA-Ângelus branco com 5m. O tempo de presa final para o MBPc foi de 224m, o ProRoot 130m, o MTA experimental 76m, o CPM 61m, o MTA-Ângelus cinza com 32m e o MTA-Ângelus branco com 20m.

BRAZ et al.²¹, em 2006, avaliaram a genotoxicidade do MTA e cimento Portland em linfócitos. Empregaram 10 doadores de sangue saudáveis entre 25 e 27 anos de idade, nenhum dos pacientes apresentava história de fumantes ou câncer. Coletaram dois mL de sangue da veia dos pacientes, realizando o isolamento dos linfócitos. Os materiais empregados foram MTA-Ângelus, cimento Portland cinza Votoran e cimento Portland branco Votoran. Todos os materiais foram preparados com solução salina. Como controle negativo empregaram a solução salina e como controle positivo, os linfócitos foram expostos no peróxido de hidrogênio durante cinco minutos. Os resultados mostraram que a exposição dos linfócitos ao MTA não produziu efeito genotóxico nas células, da mesma forma não foi encontrado alteração no

DNA dos linfócitos testados com cimentos Portland. Nenhum dos cimentos testados produziu mortalidade celular. Esta avaliação determinou um incremento significativo no grupo de controle positivo (dióxido de carbono) quando foi comparado com o controle negativo que obteve níveis altos de viabilidade celular. Os autores concluíram segundo estes resultados, que o MTA e o cimento Portland não induzem lesões de DNA em linfócitos humanos.

MORAIS et al.¹¹⁴, em 2006, compararam a biocompatibilidade do MTA e do cimento Portland acrescido com 20% de iodofórmio. Foram empregados 18 ratos albinos *Wistar* com peso entre 200 e 250 gramas, os quais foram divididos em três grupos de seis animais cada um. Empregaram tubos de polietileno de 7mm de comprimento por 1,3mm de diâmetro preenchidos com os cimentos e implantados no tecido subcutâneo do dorso dos animais. Utilizaram como controle tubos de polietileno vazios. Os períodos experimentais foram de 7, 30 e 60 dias. Os resultados mostraram que no período de sete dias, o cimento Portland apresentou menor inflamação que os demais grupos, o que, segundo o autor, pode ser devido ao acréscimo de iodofórmio no cimento, o qual foi acrescido para dar radiopacidade ao material. Após o período de 30 dias, o grupo do MTA apresentou áreas hialinas e tecido basofílico sugerindo calcificação distrófica. Finalmente, no período de 60 dias, o grupo de controle apresentou um tecido fibroso denso rico em fibras de colágeno, este tecido apresentou-se também ao redor do MTA, mas, também observaram uma reação inflamatória o qual pode ser devido à extrusão do material. O cimento Portland com iodofórmio apresentou resultados similares ao MTA, só que a cápsula fibrosa estava mais organizada. Os autores concluíram que não houve diferença significativa nas respostas inflamatórias entre os cimentos em nenhum dos períodos.

MIYAGAK et al.¹¹⁰, em 2006, avaliaram a capacidade antimicrobiana do N-Rickert, Sealapex, AH Plus, MTA e cimento Portland. O método realizado foi a difusão em ágar em placas inoculadas por microorganismos: *Cândida Albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Após preparar as placas com ágar BHI, foram realizadas cinco cavidades de 4mm e os microorganismos foram dispersados nas placas. Os cimentos

experimentais foram manipulados e colocados nas cavidades que tinham sido realizadas nas placas. Após os materiais tomarem presa, as placas foram incubadas a 37°C durante 24 horas. Posteriormente, as zonas de inibição foram mensuradas. Os resultados mostraram que a maior resistência na atividade antimicrobiana foi dada pelo *E. faecalis*, já que foi resistente contra todos os cimentos. Não foi observada atividade antimicrobiana no MTA nem no cimento Portland; ambos os cimentos apresentaram os mesmos resultados. Os cimentos N-Rickert e o AH Plus obtiveram melhores resultados.

JUAREZ BROON et al.⁸⁴, em 2006, avaliaram a resposta dos tecidos perirradiculares de dentes de cães ao MTA e cimento Portland. Foram empregados 15 pré-molares superiores e inferiores de quatro cães de 18 a 24 meses de idade. Os dentes foram distribuídos em três grupos, um para cada cimento experimental (ProRoot MTA, MTA-Ângelus e cimento Portland branco). Após anestesia e isolamento absoluto, realizaram a abertura coronária, instrumentação e obturação dos canais radiculares. Após a limpeza da câmara pulpar, realizaram perfurações no terço cervical da raiz mesial de todos os dentes e o selamento das perfurações com os cimentos testados. Decorridos os 90 dias os animais foram mortos e os espécimes preparados para análise microscópica. Os resultados mostraram que todos os dentes apresentaram neoformação de cimento completa ou incompleta; observaram também uma reação inflamatória de leve a moderada. No grupo do MTA, observaram três dos cinco dentes sem infiltrado inflamatório e dois com resposta inflamatória; três dentes mostraram uma neoformação de cimento completa e em dois dentes foi incompleta. No grupo do MTA-Ângelus, observaram quatro dos cinco dentes com inflamação leve a moderada e o outro sem inflamação; dois dentes apresentaram neoformação do cimento completa e dois apresentaram neoformação incompleta. No grupo do cimento Portland branco, dois dentes mostraram inflamação de leve a moderada e dois dentes apresentaram-se sem inflamação; a neoformação completa de cimento foi vista em dois dentes, nos outros dois foi incompleta. Em geral os dentes tratados com MTA-Ângelus e cimento Portland branco apresentaram maiores amostras com inflamação, mas, não foi estatisticamente significante. Os autores concluíram que os três materiais estimularam a formação de cimento nas perfurações radiculares e

que os casos de inflamação apresentaram acompanhados de extrusão do material aos tecidos periodontais.

RIBEIRO et al.¹²⁸, em 2006, avaliaram e compararam o efeito antimicrobiano entre o MTA e o cimento Portland. Os materiais testados foram o ProRoot MTA, MTA-Ângelus, hidróxido de cálcio e o cimento Portland Votoran. A atividade antimicrobiana desses materiais foi avaliada pelo método de difusão ágar contra os microorganismos: *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteróides fragilis* e *Escherichia coli*. Placas contendo ágar Muller-Hinton suplementadas com sangue de carneiro, hemina e menadiona foram inoculadas com as suspensões bacterianas. Foram realizadas cavidades nas placas, as quais foram preenchidas com os materiais. Posteriormente, se realizou a incubação a 37°C por 48 horas numa atmosfera de anaeróbios, exceto *P. aeruginosa*. O diâmetro de inibição foi medido com auxílio de uma régua de precisão. Os resultados mostraram que todos os materiais foram capazes de inibir o crescimento da *P. aeruginosa*. Os cimentos á base de MTA e o cimento Portland, não foram capazes de inibir a *E. coli*, *E. faecalis* nem *B. fragilis*. O hidróxido de cálcio foi o único material que conseguiu inibir a *B. fragilis*, além da *P. aeruginosa*. Com estes resultados, os autores concluíram que os MTAs e o cimento Portland mostraram atividades antimicrobianas iguais, e que a pasta de hidróxido de cálcio mostrou maior atividade antimicrobiana que os outros cimentos.

TANOMARU FILHO et al.¹⁵¹, em 2007, avaliaram a atividade antimicrobiana do MTA e cimento Portland. Os materiais testados foram o Sealer 26, Sealapex com óxido de zinco, ZOE, cimento Portland cinza, cimento Portland branco, MTA-Ângelus cinza, MTA-Ângelus branco e ProRoot MTA. Empregaram o método de difusão em ágar. A base da placa foi realizada utilizando ágar Muller-Hinton, onde foram realizadas cavidades. Os materiais foram manipulados e imediatamente inseridos nessas cavidades. Os microorganismos empregados neste estudo foram: *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia Coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Cândida albicans* e *Enterococcus faecalis*. As placas foram mantidas em temperatura ambiente por duas horas, posteriormente foram incubadas a 37°C durante 24

horas. Posteriormente, as zonas de inibição foram mensuradas. Os resultados mostraram que todos os microorganismos utilizados neste estudo foram inibidos pelos materiais avaliados. A análise estatística demonstrou que o Sealapex, o ZOE e o Sealer 26 apresentaram halos de inibição maiores em relação aos cimentos à base de MTA e cimentos Portland.

MIN et al.¹⁰⁸, em 2007, investigaram a citotoxicidade do cimento Portland em culturas de células da polpa humana. O tecido pulpar foi obtido de dentes seccionados, onde a polpa foi removida assepticamente e colocada em solução salina. O tecido pulpar foi moído em pequenos fragmentos. As culturas de células foram mantidas a 37°C numa umidade atmosférica de 5% de dióxido de carbono e 95% de ar. Quatro materiais foram avaliados: cimento Portland, Ionômero de vidro, IRM e Dycal. Os materiais foram manipulados, esperaram a que tomassem presa e foram expostos a luz ultravioleta. Posteriormente foram colocados nas culturas e incubados por períodos de 12, 24, 48 e 72 horas. Os resultados mostraram que todos os cimentos com exceção do cimento Portland apresentaram uma diminuição na viabilidade celular com 12 horas. O cimento Portland mostrou maior viabilidade celular que os outros materiais em todos os períodos. Em comparação com os outros grupos o cimento Portland não mostrou citotoxicidade. Os autores também realizaram a análise de microscopia eletrônica de varredura (SEM). Nesta análise, os materiais foram condensados em anéis acrílicos de 2 por 20mm. Esperaram que os cimentos tomassem presa numa incubadora a 37°C durante 24 horas e posteriormente foram colocados em placas de cultura. Células da polpa humana foram colocadas nas placas de cultura e após um período de incubação de 24 horas as placas foram fixadas com 2,5% de glutaraldeído durante 2 horas. Posteriormente, realizaram a avaliação por SEM. Os resultados mostraram que nos grupos do Ionômero de vidro, IRM e Dycal, foram observadas células redondas sobre os materiais, mas, não foram observadas células com vida. Em contraste, no grupo do cimento Portland observaram células aplanadas, juntas e espalhadas através do material com numerosas extensões citoplasmáticas. Os autores concluíram que os resultados sugerem que o cimento Portland é biocompatível em cultura de células pulpares humanas e tem potencial para ser empregado em capeamentos pulpares.

2.4 Sobre o Endo-CPM-Sealer

BORTOLINI et al.¹⁷, em 2005, avaliaram a capacidade de selamento marginal de obturações endodônticas na presença de *Enterococcus faecalis*. Avaliaram-se os cimentos: AH Plus, Endo-CPM-Sealer, EndoRez e N-Rickert. Utilizaram 44 caninos humanos extraídos, os quais foram submetidos à abertura coronária e preparo químico-mecânico para a posterior obturação com os cimentos experimentais. Posteriormente as amostras foram impermeabilizadas e acondicionadas em dispositivos de borracha adaptados em frascos de acrílico contendo meio de cultura. Foram inoculados na câmara pulpar 10µl de cultura de *E. faecalis*. Os dentes foram incubados em estufa a 37°C, sendo o meio de cultura da câmara pulpar substituído a cada 72 horas por um período de 30 dias. Os cimentos Endo-CPM-Sealer e N-Rickert apresentaram contaminação em 10% das amostras, enquanto nos outros cimentos não foi observado crescimento. Os autores concluíram que o melhor desempenho de selamento ocorreu nos dentes obturados com AH Plus e EndoRez.

FERREIRA et al.⁵², em 2005, avaliaram a composição química do MTA-Ângelus, CPM e Endo-CPM-Sealer. Amostras de 1gr de cada material foram analisadas por Espectrometria de Fluorescência de Raios-X e por Difratometria de Raios-X. A análise experimental demonstrou os mesmos elementos em predominância para todas as amostras: óxido de bismuto, óxido de alumínio, óxido de silício, exceto o Endo-CPM-Sealer que contém também quantidade significativa de sulfato de bário. Com os resultados obtidos, os autores, concluíram que em todas as amostras estudadas não são esclarecidos importantes compostos da formulação.

SILVEIRA; LAGE-MARQUES¹⁴¹, em 2006, compararam a capacidade de selamento marginal apical do Endo-CPM-Sealer com a de outros cimentos. Empregaram 40 dentes humanos extraídos, nos quais após realizar o preparo químico-mecânico, foi realizada a obturação dos canais com a técnica McSpadden conjuntamente com os seguintes cimentos: Sealer 26, Endo-CPM-Sealer, N-Rickert e Ionômero de vidro. Para cada cimento empregaram 10

dentes. Posteriormente os dentes foram impermeabilizados e as raízes foram imersas em Rodamina B a 1% por 24 horas. Os cortes foram digitalizados para estudo no programa de leitura ImageLab, onde se obteve a porcentagem de infiltração. Os resultados mostraram que o Endo-CPM-Sealer apresentou o maior índice de infiltração estatisticamente significativa, seguido pelo ionômero de vidro. Os autores concluíram que o selamento marginal apical dos novos cimentos foi inferior aos cimentos tradicionais.

3 PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi:

3.1 Avaliar a resposta do tecido subcutâneo de ratos à implantação de tubos de polietileno preenchidos com os seguintes materiais:

- Endo-CPM-Sealer,
- Clínquer do cimento Portland cinza puro,
- Clínquer do cimento Portland cinza acrescido com 2% de sulfato de cálcio,
- Clínquer do cimento Portland cinza acrescido com 5% de sulfato de cálcio.

3.2 Avaliar o tempo de presa de todos os materiais.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 ANIMAIS

Utilizamos para este estudo 24 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus Norvegicus*), adultos jovens, com peso entre 240 e 280 gramas, provenientes do biotério da Faculdade de Odontologia de Bauru – USP. Os animais foram mantidos no mesmo biotério em gaiolas plásticas coletivas devidamente identificadas num recinto arejado, com temperatura controlada e luz artificial. Os animais foram alimentados com ração comercial balanceada e água *ad libitum*. Previamente ao início do presente estudo, o projeto de pesquisa foi submetido à avaliação da Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais (CEEPA – Protocolo nº 02/2006), o qual foi aprovado na data de 03 de abril de 2006 (Anexo A).

4.1.2 CIMENTOS

Foram utilizados neste experimento quatro materiais com as seguintes fórmulas e dosagens:

A. Endo-CPM-Sealer^a (Figura 1)

Apresentação:

- 1 frasco de pó com 15g.
- 1 frasco de líquido com 10mL.

Composição química:

- 50% de Agregado de trióxido mineral (SiO_2 ; K_2O ; Al_2O_3 ; SO_3 ; CaO ; Bi_2O_3)
- 7% de Bióxido de Silício

^a Lab. Egeo SRL – Buenos Aires, Argentina.

- 10% de Carbonato de Cálcio
- 10% de Trióxido de Bismuto
- 10% de Sulfato de Bário
- 1% de Alginato de Propilenoglicol
- 1% de Propilenoglicol
- 1% de Citrato de Sódio
- 10% de Cloreto de Cálcio

Proporção:

A proporção utilizada no experimento foi a recomendada pelo fabricante, cinco partes de pó para uma de líquido. Manipulou-se o material por um período de 40 segundos até conseguir um cimento homogêneo e plástico, formando um fio de 2cm entre a placa de vidro e a espátula. Segundo o fabricante o tempo de trabalho aproximado é de 30 minutos numa temperatura ambiente de 25°C.

B. Clínquer do cimento Portland cinza^b (Figura 2)

O clínquer do cimento Portland cinza utilizado neste estudo foi obtido diretamente da fábrica de cimento.

O clínquer do cimento Portland cinza que se apresentava em forma de pequenas esferas (Figura 3), foi moído com auxílio de um gral e pistilo. Após a primeira trituração, o clínquer foi peneirado com o auxílio de uma peneira^c com malha de 0,125mm. O pó obtido do clínquer foi moído mais duas vezes e novamente peneirado com peneiras de 0,074mm e de 0,062mm, obtendo assim, partículas de pó finas (Figura 4).

^b Fabrica de cimento Fancesa – Sucre, Chuquisaca, Bolívia.

^c Bronzinox – São Paulo, SP, Brasil.

Proporção:

A proporção utilizada no experimento foi a recomendada para o uso do MTA, ou seja, uma parte de pó para uma parte de água destilada. O material se manipulou até conseguir uma consistência pastosa.

C. Clínquer do cimento Portland acrescido com 2% de sulfato de cálcio (Figura 5)

Numa porção do pó obtido da pulverização do clínquer foi acrescido o sulfato de cálcio diidratado numa quantidade de 2% do peso total do clínquer obtido, com o objetivo de retardar seu tempo de presa.

Composição:

- 98% do clínquer do cimento Portland
- 2% de sulfato de cálcio diidratado^d

Proporção:

Da mesma forma que o clínquer puro, a proporção utilizada no experimento foi de uma parte de pó para uma parte de água. O material foi manipulado até conseguir uma consistência pastosa.

D. Clínquer do cimento Portland acrescido com 5% de sulfato de cálcio (Figura 6)

Igual ao cimento anterior, o sulfato de cálcio diidratado foi acrescido ao clínquer puro, numa quantidade de 5% do peso total obtido, com o objetivo de retardar mais ainda o tempo de presa.

^d Carlo Erba Reagenti - Itália.

Composição:

- 95% do clínquer do cimento Portland
- 5% de sulfato de cálcio dihidratado

Proporção:

A proporção utilizada foi a mesma utilizada nos dois últimos cimentos, até conseguir uma consistência pastosa.

4.1.3 TUBOS DE POLIETILENO

Foram utilizados 96 tubos de polietileno^e com 1,5mm de diâmetro interno, 2,0mm de diâmetro externo e 10,0mm de comprimento, fechados numa das extremidades por guta-percha^f (Figura 7) que serviu como controle. Previamente ao procedimento cirúrgico, os tubos foram desinfetados numa solução de glutaraldeído a 2,2%^g, onde foram mantidos por um período de 12 horas, posteriormente foram lavados e secos.

^e Embramed Ind. Com. Ltda. – São Paulo, SP, Brasil.

^f Dentsply – Petrópolis, RJ, Brasil.

^g Cidex – Johnson & Johnson, Produtos Profissionais Ltda. – São José dos Campos, SP, Brasil.

Figura 1 – Endo-CPM-Sealer.

Figura 2 – Pó do Clínquer do cimento Portland cinza.

Figura 3 – Clínquer do cimento Portland (esferas).

Figura 4 – Pó do clínquer do cimento Portland cinza moído e peneirado.

Figura 5 – Clínquer do cimento Portland acrescido com 2% de sulfato de cálcio.

Figura 6 – Clínquer do cimento Portland acrescido com 5% de sulfato de cálcio.

Figura 7 – Tubos de Polietileno, fechados numa extremidade com guta-percha.

4.1.4 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os ratos foram divididos em três grupos de oito animais, um para cada período experimental, que foram de 15, 30 e 60 dias (Tabela 1). Cada animal recebeu quatro implantes no tecido subcutâneo da região dorsal, cada implante continha um cimento diferente, ou seja, cada rato recebeu os quatros cimentos. Como controle foi utilizado o lado da guta-percha.

Tabela 1 – Distribuição dos implantes em relação aos materiais e períodos empregados no experimento.

GRUPO	MATERIAL	PERÍODOS		
		15 dias	30 dias	60 dias
I	Endo-CPM-Sealer	8	8	8
II	Clínquer do cimento Portland puro	8	8	8
III	Clínquer do cimento Portland acrescido com 2% de Sulfato de Cálcio	8	8	8
IV	Clínquer do cimento Portland acrescido com 5% de Sulfato de Cálcio	8	8	8
V	Guta-percha (controle)	32	32	32

4.2 METODOS

4.2.1 DA IMPLANTAÇÃO SUBCUTÂNEA

4.2.1.1 IMPLANTAÇÃO DOS TUBOS

Foi realizada a anestesia, seguindo a tabela peso/dosagem estabelecida pelo biotério da FOB - USP. Primeiramente foi realizada uma pré-anestesia com Cloridrato de Ketamina^h (anestésico), na dosagem de 25mg/Kg por via intramuscular na face posterior da coxa. Após cinco minutos de latência, a anestesia foi complementada com a associação de Cloridrato de Ketamina com Cloridrato de Xilazina^h (relaxante muscular) na dosagem de 25 mg/Kg para 10 mg/Kg por via intramuscular.

^h Agribbrands do Brasil Ltda. – Paulínia, SP, Brasil.

Posteriormente, foi realizada a tricotomia na região dorsal dos animais e anti-sepsia desta região com álcool iodado a 1%ⁱ. Os cimentos foram manipulados e introduzidos no interior dos tubos de polietileno com o auxílio de um calcador endodôntico.

Duas incisões foram realizadas com uma lâmina de bisturi nº 15^j na linha média do dorso de cada animal. Posteriormente com o auxílio de uma tesoura ponta romba foi realizada uma pequena divulsão nos tecidos. Os tubos de polietileno com cimentos foram colocados na ponta de um Trocarte (Figura 8) o qual foi introduzido no espaço aberto pela tesoura (Figura 9), até atingir uma profundidade de 20mm (Figura 10). Esta introdução foi feita tomando cuidado para não perfurar nem dilacerar os tecidos, fazendo-se movimentos giratórios com uma pressão leve e dirigindo-se em sentido das extremidades dos animais, colocando-se num total quatro tubos em cada rato (Figura 11).

Em seguida procedeu-se a sutura das bordas da incisão com fio de seda 4-0^k. Os animais foram acompanhados até que se recuperassem da anestesia, sendo observados diariamente para a verificação do comportamento, com a finalidade de evitar ocorrências que pudessem comprometer o experimento. A marcação dos ratos foi realizada mediante furos nas orelhas. Após cinco dias da cirurgia, as suturas foram removidas. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas até completarem os períodos experimentais.

ⁱ Cinord Sul Indústria e comércio Ltda. – Ribeirão Preto, SP, Brasil.

^j Free-Bac, Wuxi Xinda Medical Device Co. Ltda. – Xishan City, China.

^k Ethicon – Johnson & Johnson, Produtos Profissionais Ltda. – São José dos Campos, SP, Brasil.

Figura 8a – Trocarte.

Figura 8b – Colocação do tubo na ponta do Trocarte.

Figura 9 – Introdução do trocarte no tecido subcutâneo.

Figura 10 – Implantação do tubo no tecido subcutâneo.

Figura 11 – Incisões e localização dos tubos implantados.

4.2.1.2 MORTE DOS ANIMAIS E REMOÇÃO DOS TECIDOS

Decorridos os períodos experimentais, os animais foram mortos com uma dose excessiva de anestésico injetado no coração. Posteriormente, localizaram-se os implantes por meio da palpação (Figura 12) e realizou-se nova tricotomia nessas regiões. Os implantes e seu tecido adjacente foram dissecados (Figura 13). Essas peças foram distendidas em papel cartão e em seguida foram fixadas numa solução de formol a 10% em frascos individuais com a sua respectiva identificação.

4.2.1.3 PROCESSAMENTO LABORATORIAL

Os implantes foram mantidos no formol por um período de sete dias. Posteriormente, foram realizadas lavagens das amostras em água durante 24 horas; em seguida, eliminou-se o tecido adjacente em excesso, deixando a amostra com um formato retangular e tecido suficiente para a realização da avaliação microscópica (Figura 14). Na extremidade que serviu como controle foi realizado um corte, com o objetivo de identificar ambos os materiais. Em seguida procedeu-se a remoção dos tubos. Primeiramente, se incisou longitudinalmente num dos lados do tubo com auxílio de uma lâmina de bisturi nº 15 sem atingir as extremidades dos tubos (Figura 15), criando um espaço por onde se introduziu cuidadosamente uma sonda interproximal nº1 para desprender a cápsula fibrosa e remover o tubo de polietileno sem dilacerar a cápsula fibrosa (Figura 16). Finalmente as peças foram colocadas em álcool 70% durante um período de 24 horas.

Decorridas as 24 horas em álcool 70%, foi realizada a desidratação das amostras, onde as peças foram imersas em três banhos de álcool etílico absoluto. Posteriormente, realizou-se a diafanização com três banhos de xilol e as amostras foram impregnadas em Histosec¹ (parafina + resina sintética). Em seguida as peças foram incluídas em Histosec, tomando cuidado de eliminar as bolhas de ar que poderiam ter se formado no interior do espaço que era

¹ Merck KGaA, Alemanha.

ocupado pelo tubo. A amostra foi colocada numa orientação fixa, para identificar as extremidades.

Após a inclusão das amostras, foram realizados cortes microscópicos semi-seriados de 5µm de espessura num micrótomo Leica^m; estes cortes se realizaram no sentido longitudinal do tubo com o objetivo de poder coletar numa mesma lâmina a extremidade que serviu como controle e a extremidade do cimento experimental.

Os cortes foram corados pela técnica da Hematoxilina e Eosina (H.E.) e procedeu-se à avaliação microscópica da resposta tecidual.

^m Leica – Jung RM2045 – Leica Instruments Gmbh D-6907 – Alemanha.

Figura 12 – Localização dos implantes realizando a palpação.

Figura 13 – Áreas dos implantes dissecada.

Figura 14 – Formato retangular da amostra, com tecido suficiente para análise microscópica.

Figura 15 – Incisão longitudinal no lado do tubo, sem tocar suas extremidades, para não lesar a região a ser avaliada.

Figura 16 – Eliminação do tubo com auxílio de uma sonda interproximal nº1, sem dilacerar a cápsula fibrosa.

4.2.1.4 ANÁLISE MICROSCÓPICA

4.2.1.4.1 Avaliação Histológica

A avaliação das respostas do tecido conjuntivo subcutâneo em contato com os cimentos testados foi realizada de forma descritiva; também foi realizada a avaliação morfométrica (da densidade de volume das fibras, fibroblastos, células inflamatórias, vasos e outros componentes presentes na reação produzida pelo cimento), que foi submetida à análise estatística. As lâminas representativas de cada grupo experimental foram fotomicrografadas em microscópio Zeissⁿ, utilizando-se filme Kodak Gold - ASA 100.

4.2.1.4.2 Avaliação morfométrica

A. Casualização dos campos microscópicos

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

De cada amostra, foram obtidas 5 lâminas, contendo quatro cortes semi-seriados cada uma, com intervalos de 50µm entre cada lâmina e, de cada lâmina selecionada, foi escolhido um corte histológico para ser avaliado.

ⁿ Carl Zeiss, Inc., - Alemanha.

Para a escolha dos cinco campos microscópicos por corte, foi utilizado um esquema de casualização sistemática (Figura 17) segundo as indicações de WEIBEL¹⁷¹, em 1969. Nesse esquema os campos microscópicos são escolhidos em intervalos regulares, de maneira que todas as regiões do corte histológico sejam representadas.

Com a finalidade de verificar a homogeneidade da amostra utilizada na contagem de pontos sobre as estruturas da amostra (25 campos microscópicos por animal), obtida através do esquema de casualização sistemática, aplicamos o *teste do qui-quadrado múltiplo* (χ^2).

Assim, em uma das amostras do lote total, escolhidos ao acaso, realizou-se a contagem de pontos em um total de 50 campos microscópicos casualizados ao invés daqueles 25 campos padronizados.

Os resultados conseguidos nos primeiros 25 campos foram confrontados com os conseguidos nos 25 campos seguintes por meio do teste do χ^2 múltiplo. Neste tipo de teste, a partir dos resultados das duas séries de contagens do número dos critérios morfológicos avaliados, é calculado o valor esperado correspondente.

O χ^2 para cada critério morfológico avaliado foi obtido por meio da relação:

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

Onde, α = valor observado na contagem,

β = valor esperado.

Para que a amostra seja homogênea a soma de todos os valores de χ^2 não deve ultrapassar o valor de χ^2 crítico. O nível de probabilidade do χ^2 crítico foi estabelecido, para todos os casos, em nível de 5% de erro ($P < 0,05$). Segundo o valor encontrado na tabela de distribuição do qui-quadrado, o valor de χ^2 crítico é 14,067.

Em todos os casos, o χ^2 calculado não ultrapassou o χ^2 crítico, portanto os 25 campos microscópicos casualizados foram suficientes para obtenção de cada um dos parâmetros morfométricos básicos de densidade de volume neste trabalho.

Figura 17 - Esquema de casualização dos 5 campos microscópicos por corte histológico

B. Avaliação morfométrica da densidade de volume (V_{vi}) das fibras, fibroblastos, células inflamatórias, vasos e outras estruturas.

Esses parâmetros histológicos foram avaliados com uma objetiva de imersão de 100X e um graticulo de integração II Zeiss^o colocado em uma ocular Kpl 8X, composta de cinco linhas paralelas e de 25 pontos numa área quadrangular (Figura 18). A imagem do graticulo foi superposta, sucessivamente, a 25 campos histológicos escolhidos por amostragem sistemática (WEIBEL¹⁷¹, 1969), e anotados os número de pontos (P_i) que caíram sobre cada estrutura, ou seja, fibras, fibroblastos, células inflamatórias, vasos e outros componentes (conforme critérios descritos a partir da Figura19).

^o Carl Zeiss, Inc., - Alemanha.

A densidade de volume (V_{vi}) foi determinada pela seguinte fórmula:
 $V_{vi} = P_i/P$; onde P = número total de pontos.

Figura 18 - Graticulo de integração II Zeiss sobre a imagem de um corte histológico

Para facilitar a compreensão dos critérios morfológicos (considerados para contagem morfométrica na cápsula fibrosa adjacente ao material implantado), estes são descritos na Figura 19.

Figura 19 - Critérios morfológicos utilizados para a contagem morfométrica em cortes de tecidos corados pela HE: **Fibras colágenas** (setas vazadas); **Fibroblastos**: como o citoplasma dos fibroblastos (setas verdes) apresentam a mesma coloração das fibras foram considerados apenas os núcleos; **Células inflamatórias**: foram evidenciados na cápsula preferencialmente macrófagos (setas azuis), células gigantes (cabeça de seta preta) e muito raramente neutrófilos (círculo); **Vasos sanguíneos** (cabeça de seta azul); e **Outros componentes**: foram considerados o material extravasado (asteriscos) e o espaço intercelular (setas vermelhas).

4.2.1.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos valores obtidos para cada estrutura foi realizada utilizando o programa “Statistica v. 5.1”^p. Para o estudo da comparação entre material e períodos de implantação aplicou-se a análise de variância a dois critérios (ANOVA), seguidos pelo teste de Tukey para comparações múltiplas, sendo adotado 0,05 (5%) como nível de rejeição da hipótese de nulidade.

^p StatSoft Inc., Tulsa, USA.

4.2.2 DA DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE PRESA

A determinação do tempo de presa dos cimentos foi realizada com base na especificação nº 57 da ADA⁷, normalização que aborda os ensaios que avaliam as propriedades físico-químicas de materiais obturadores.

Esta avaliação foi realizada num ambiente com temperatura de 37°C e umidade de 95%. Após a manipulação, os cimentos foram inseridos em anéis metálicos com 10mm de diâmetro e 2mm de espessura (Figura 20). Realizaram-se três corpos de prova para cada material. O tempo de presa começou a ser controlado desde o início da manipulação dos cimentos. Após decorridos 180 segundos, os espécimes eram submetidos a uma pressão vertical, que foi realizada com o auxílio de uma agulha de Gillmore de 113,5g (Figura 21), observando-se a existência ou não da formação de uma depressão ou endentação nas amostras; em caso de não se observar a depressão colocava-se novamente a agulha após outros 30 segundos, repetindo esta ação até que não se observasse mais a depressão, obtendo assim o tempo de presa inicial. O tempo de presa final foi obtido da mesma forma, diferenciando-se que neste caso, pela utilização de uma agulha de Gillmore de 456,5g (Figura 22). Resumindo, o tempo de presa era obtido desde o início da manipulação dos cimentos até que a agulha deixasse de produzir a endentação na amostra.

Figura 20 – Anel metálico empregado para a determinação do tempo de presa.

Figura 21 – Agulha de Guillmore de 113,5 gramas.

Figura 22 – Agulha de Guillmore de 456,5 gramas.

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 Da Implantação Subcutânea

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

- Avaliação microscópica descritiva do tecido reacional adjacente à superfície do material implantado de todos os grupos nos três períodos.

- Avaliação morfométrica da densidade de volume das fibras de colágeno, fibroblastos, células inflamatórias, vasos e outros componentes encontrados no tecido conjuntivo.

5.1.1 Avaliação microscópica descritiva do tecido reacional adjacente à superfície do material implantado

5.1.1.1 No período de 15 dias.

5.1.1.1.1 Endo-CPM-Sealer

O quadro histomorfológico mostrou a formação de uma fina cápsula fibrosa contornando todo o tubo de polietileno, enquanto que, na superfície em contato com o cimento, a cápsula apresentava-se mais espessa e desorganizada, contendo no seu interior grande quantidade de cimento extravasado na maioria dos espécimes (Figura 23). Microscopicamente, o cimento apresentava característica amorfa, coloração avermelhada ou arroxeada, conforme o tipo de corante impregnado, e circundado por inúmeros macrófagos e células gigantes, caracterizando um processo inflamatório crônico (Figura 23). Nas regiões onde não se observou a presença de cimento extravasado, a cápsula apresentou-se mais organizada, com fibras e fibroblastos dispostos paralelamente à superfície do cimento, contendo muitos capilares e raras células inflamatórias (Figura 24). Apenas um dos oito espécimes avaliados não apresentou extravasamento do cimento e a cápsula

circundante mostrava-se menos espessa, mais organizada e com ausência de células inflamatórias.

5.1.1.1.2 Clínquer do cimento Portland puro

Neste grupo também observou-se a formação de uma fina cápsula fibrosa contornando o tubo de polietileno, sendo que, na extremidade que continha o material testado, a cápsula mostrou-se mais espessa com fibras colágenas arranjadas paralelamente ao cimento e contendo muitos fibroblastos e vasos sangüíneos e raríssimas células inflamatórias, predominantemente, macrófagos, indicando que a cápsula ainda encontrava-se na fase de reorganização. Em alguns casos, observou-se pequena quantidade de cimento extravasado circundado por macrófagos e células gigantes multinucleadas, caracterizando o processo inflamatório como crônico tipo corpo estranho (Figuras 25 e 26). Macrófagos e células gigantes multinucleadas também se mostravam presentes no contorno do espaço deixado pelo cimento do tubo de polietileno.

5.1.1.1.3 Clínquer do cimento Portland acrescido com 2% de sulfato de cálcio

Este grupo apresentou quadro histomorfológico semelhante ao do grupo anterior, ou seja, formação de uma fina cápsula fibrosa contornando o tubo de polietileno, na extremidade que continha o material testado, a cápsula mais espessa com fibras colágenas arranjadas paralelamente ao cimento com inúmeros fibroblastos e vasos sangüíneos e raríssimas células inflamatórias, predominantemente, macrófagos, indicando que a cápsula ainda encontrava-se na fase de reorganização (Figura 27). Em alguns casos, observou-se pequena quantidade de cimento extravasado circundado por macrófagos e raras células gigantes multinucleadas, caracterizando o processo inflamatório como crônico e tipo corpo estranho (Figura 28). Macrófagos e células gigantes multinucleadas também se mostravam presentes no contorno do espaço deixado pelo cimento do tubo de polietileno.

5.1.1.1.4 Clínquer do cimento Portland acrescido com 5% de sulfato de cálcio

O quadro histomorfológico foi semelhante ao do cimento Portland puro e acrescido com 2% de sulfato de cálcio. Porém, na extremidade que continha o material testado, a cápsula apresentava-se mais organizada, ou seja, menor espessura, fibras colágenas mais densas e arranjadas paralelamente e fibroblastos menos numerosos com núcleo mais delgado, alongado e heterocromático, sempre acompanhando o sentido das fibras colágenas (Figura 29). A quantidade de extravasamento do cimento mostrou-se menor neste grupo em relação aos demais cimentos utilizados. Já, as células inflamatórias, principalmente macrófagos e células gigantes, ainda se mostravam presentes e em contato com o espaço vazio deixado pelo cimento.

5.1.1.1.5 Guta-percha (controle)

No lado do tubo utilizado como controle, a cápsula mostrou-se menos organizada em relação ao grupo do clínquer do cimento Portland, acrescido ou não com sulfato de cálcio. No grupo controle, as fibras colágenas apresentavam-se mais delgadas, os fibroblastos dispostos aleatoriamente entre as fibras e exibindo núcleos mais arredondados e eucromáticos, além de muitos capilares e espaços vazios, que foram caracterizados na histologia e na morfometria como áreas de substância intercelular amorfa, as quais, foram dissolvidas do tecido pelo processamento histotécnico (Figura 30). Na superfície da cápsula, em contato com a gutapercha, observaram-se algumas células inflamatórias como linfócitos, polimorfonucleares e células gigantes multinucleadas.

Figura 23 - Endo-CPM-Sealer, período de 15 dias pós-implantação. Observar a presença de células gigantes multinucleadas (cabeça de seta preta) e macrófagos (seta azul) circundando grande quantidade de cimento extravasado (asterisco); tecido conjuntivo (TC) contendo poucas fibras colágenas desorganizadas e fibroblastos (seta verde) dispersos; e muitos vasos sanguíneos (cabeça de seta azul). HE

Figura 24 - Endo-CPM-Sealer, período de 15 dias pós-implantação. Observar a presença de macrófago (seta azul) em contato com o espaço vazio deixado pelo cimento; tecido conjuntivo fibroso (TC) contendo fibroblastos (seta verde) e muitos vasos sanguíneos (cabeça de seta azul). HE

Figura 25 – Clínquer puro, período de 15 dias pós-implantação. Presença de tecido conjuntivo (TC) espesso desorganizado, contendo fibras colágenas, fibroblastos (seta verde) e muitos vasos sangüíneos (cabeça de seta azul); também se observa granuloma tipo corpo estranho (G) com presença de macrófagos (seta azul). HE

Figura 26 - Clínquer puro, período de 15 dias pós-implantação. Observar a presença de células gigantes multinucleadas (cabeça de seta preta) e macrófagos (seta azul) circundando moderada quantidade de cimento extravasado (asterisco); tecido conjuntivo (TC) contendo poucas fibras colágenas e fibroblastos (seta verde). HE

Figura 27 – Clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio, período de 15 dias pós-implantação. Observar a presença de macrófagos (seta azul); tecido conjuntivo (TC) espesso contendo fibras colágenas e muitos fibroblastos (seta verde) dispersos; presença de poucos vasos sanguíneos (cabeça de seta azul). HE

Figura 28 – Clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio, período de 15 dias pós-implantação. Observar a presença de macrófagos (seta azul) em contato com o espaço vazio deixado pelo cimento; tecido conjuntivo (TC) contendo fibras colágenas e fibroblastos (seta verde). HE

Figura 29 – Clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio, período de 15 dias pós-implantação. Presença de macrófagos (seta azul) e células gigantes multinucleadas (cabeça de seta preta); tecido conjuntivo (TC) contendo fibras colágenas mais densas e fibroblastos alongados (seta verde); presença de vasos sanguíneos (cabeça de seta azul). HE

Figura 30 – Controle (guta-percha), período de 15 dias pós-implantação. Presença de macrófagos (seta azul) em contato com o espaço vazio deixado pelo material e escassos neutrófilos (circulo); tecido conjuntivo (TC) contendo fibras colágenas, fibroblastos (seta verde) e vasos sanguíneos (cabeça de seta azul). HE

5.1.1.2 No período de 30 dias.

5.1.1.2.1 Endo-CPM-Sealer

O quadro histomorfológico da cápsula fibrosa do Endo-CPM-Sealer aos 30 dias apresentou menor quantidade de cimento extravasado e redução do processo inflamatório que praticamente se mostrou ausente na maioria dos casos, além de maior reorganização tecidual, em relação ao período anterior. Neste caso, a cápsula mostrou-se mais delgada, com fibras colágenas espessas e organizadas paralelamente à superfície do cimento, e poucos vasos sangüíneos. Os fibroblastos, exceto na região de extravasamento do cimento, mostravam-se dispostos paralelamente às fibras colágenas e exibiam núcleos delgados, alongados e heterocromáticos, indicando baixa atividade celular (Figuras 31 e 32).

5.1.1.2.2 Clínquer do cimento Portland puro

O quadro histomorfológico mostrou-se semelhante ao período de 15 dias, ou seja, na extremidade que continha o material testado, a cápsula mostrou-se mais espessa com fibras colágenas arranjadas paralelamente ao cimento, contendo muitos fibroblastos e raríssimas células inflamatórias, predominantemente, macrófagos e células gigantes multinucleadas, situadas próximas ao contorno do espaço deixado pelo cimento do tubo de polietileno. Alguns casos apresentaram pequena quantidade de cimento extravasado circundado por fibras colágenas, fibroblastos e raríssimas células inflamatórias, predominantemente macrófagos. Neste período, as fibras colágenas apresentavam-se mais espessas e os vasos sangüíneos menos numerosos em relação ao período anterior, indicando maior grau de organização tecidual (Figura 33).

5.1.1.2.3 Clínquer do cimento Portland acrescido com 2% de sulfato de cálcio

O quadro histomorfológico mostrou-se semelhante ao do período anterior com a presença de uma cápsula fibrosa densa, rica em fibras colágenas dispostas paralelamente à superfície do cimento e muitos fibroblastos (Figura 34). A quantidade de cimento extravasado foi menor em relação ao período anterior e as células inflamatórias menos numerosas (macrófagos e células gigantes multinucleadas) e dispersas ao longo da superfície do material. Em três casos não se observaram células inflamatórias.

5.1.1.2.4 Clínquer do cimento Portland acrescido com 5% de sulfato de cálcio

Neste período, a cápsula adjacente à superfície do cimento mostrou-se mais fibrosa e com menor quantidade de fibroblastos em relação ao período anterior, porém, exibiu o maior número de células inflamatórias, em relação aos demais cimentos e ao período inicial de 15 dias. O infiltrado inflamatório mostrou-se caracterizado por muitos macrófagos e raras células gigantes multinucleadas associadas à superfície do cimento e alguns neutrófilos dispersos no tecido conjuntivo adjacente, ricamente vascularizado (Figura 35).

5.1.1.2.5 Guta-percha (controle)

A cápsula fibrosa mostrou-se mais organizada e menos espessa em relação ao período anterior, composta por densas e compactas fibras colágenas dispostas paralelamente ao material e muitos vasos sanguíneos, localizados principalmente na porção mais externa da cápsula. Já, os fibroblastos mostraram-se menos numerosos e dispostos paralelamente às fibras colágenas com núcleo delgado, alongado e heterocromático, indicando baixa atividade celular (Figura 36).

Figura 31 - Endo-CPM-Sealer, período de 30 dias pós-implantação. Presença de macrófago (seta azul) e cimento extravasado (asterisco); tecido conjuntivo (TC) apresenta-se contendo fibras colágenas espessas, fibroblastos (seta verde) dispersos e poucos vasos sanguíneos (cabeça de seta azul). HE

Figura 32 - Endo-CPM-Sealer, período de 30 dias pós-implantação. O tecido conjuntivo (TC) apresenta-se contendo fibras colágenas organizadas com fibroblastos (seta verde) alongados; presença de poucos vasos sanguíneos (cabeça de seta azul). HE

Figura 33 – Clínquer puro, período de 30 dias pós-implantação. Presença de macrófagos (seta azul) em contato com cimento extravasado (asterisco); tecido conjuntivo (TC) contendo fibras colágenas espessas e fibroblastos (seta verde), que também podem ser observados em contato com o cimento extravasado. HE

Figura 34 – Clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio, período de 30 dias pós-implantação. Observar a presença de uma cápsula fibrosa densa, rica em fibras colágenas (TC) e fibroblastos alongados (seta verde) que se encontram paralelos à superfície do cimento; presença de vasos sangüíneos (cabeça de seta azul). HE

Figura 35 – Clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio, período de 30 dias pós-implantação. Presença de macrófagos (seta azul) e células gigantes multinucleadas (cabeça de seta preta); tecido conjuntivo (TC) contendo fibras colágenas densas, fibroblastos (seta verde) e vasos sangüíneos (cabeça de seta azul). HE

Figura 36 – Controle (guta-percha), período de 30 dias pós-implantação. Cápsula fibrosa fina, com presença de macrófago (seta azul) em contato com o espaço vazio deixado pelo cimento; tecido conjuntivo (TC) contendo fibras colágenas densas com poucos fibroblastos (seta verde) alongados e muitos vasos sangüíneos (cabeça de seta azul). HE

5.1.1.3 No período de 60 dias.

5.1.1.3.1 Endo-CPM-Sealer

Ao término de 60 dias, observaram-se dois quadros histomorfológicos distintos. O primeiro quadro foi caracterizado pela presença de pequena quantidade de cimento extravasado, disperso ao longo da cápsula e circundado por fibras colágenas desorganizadas, fibroblastos e raríssimas células inflamatórias, predominantemente macrófagos. Neste caso, apenas as áreas onde não se observou extravasamento do cimento, o tecido conjuntivo se mostrou mais organizado. Já, em três casos, onde não se observou extravasamento do cimento, a cápsula se mostrava delgada, com densas fibras colágenas dispostas paralelamente ao cimento e menor número de fibroblastos e vasos sangüíneos, indicando baixa resposta celular com relação ao cimento implantado (Figura 37).

5.1.1.3.2 Clínquer do cimento Portland puro

Observou-se o aumento do fibrosamento, este grupo apresentou a maior quantidade de fibras em relação a todos os cimentos em todos os períodos. O número de fibroblastos também foi maior em relação aos dois períodos anteriores (Figura 38). A reação inflamatória diminuiu, o número de células inflamatórias foi baixo, encontraram-se poucos macrófagos e células gigantes multinucleadas e, discreto número de eosinófilos em contato com o espaço deixado pelo cimento. Houve muito pouco material extravasado no interior da cápsula fibrosa, contornado por fibras de colágeno e algumas células inflamatórias.

5.1.1.3.3 Clínquer do cimento Portland acrescido com 2% de sulfato de cálcio

O quadro histomorfológico também exibiu dois quadros bem distintos pela presença ou não do cimento extravasado, conforme observado nos dois

cimentos anteriores, Endo-CPM-Sealer e clínquer do cimento puro, em mesmo período (Figura 39).

5.1.1.3.4 Clínquer do cimento Portland acrescido com 5% de sulfato de cálcio

Neste período, observou-se menor quantidade de material extravasado em relação aos demais cimentos, e a cápsula presente em sua superfície mostrou-se rica em densas fibras colágenas arranjadas paralelamente à superfície do cimento, muitos fibroblastos delgados dispostos ao longo das fibras, raríssimas células inflamatórias sempre associadas à superfície do cimento e poucos vasos sangüíneos (Figura 40).

5.1.1.3.5 Guta-percha (controle)

A cápsula fibrosa mostrou características histomorfológicas similares ao do período de 15 dias, porém de maior espessura. A cápsula mostrou-se composta por densas e compactas fibras colágenas dispostas paralelamente ao cimento e moderada quantidade de vasos sangüíneos, localizados principalmente na porção mais externa da cápsula. Já os fibroblastos mostraram-se dispostos paralelamente às fibras colágenas com núcleo delgado, alongado e heterocromático indicando baixa atividade celular (Figura 41).

Figura 37 - Endo-CPM-Sealer, período de 60 dias pós-implantação. Presença de cápsula fibrosa delgada contendo densas fibras colágenas (TC), poucos fibroblastos (seta verde) alongados e vasos sangüíneos (cabeça de seta azul). HE

Figura 38 – Clíiquer puro, período de 60 dias pós-implantação. Presença de cápsula fibrosa fina e organizada contendo fibras colágenas (TC) e fibroblastos alongados (seta verde); presença de macrófago (seta azul) em contato com o espaço vazio deixado pelo cimento e pouco vasos sangüíneos (cabeça de seta azul). HE

Figura 39 – Clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio, período de 60 dias pós-implantação. Observar a presença de uma cápsula fibrosa grossa, rica em fibras colágenas (TC) e fibroblastos alongados (seta verde) que se encontram paralelos à superfície do cimento; presença de vasos sangüíneos (cabeça de seta azul). HE

Figura 40 – Clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio, período de 60 dias pós-implantação. Observar a presença de macrófago (seta azul) em contato com o espaço vazio deixado pelo cimento; cápsula fibrosa grossa contendo fibras colágenas (TC) e fibroblastos (seta verde) alongados; presença de cimento extravasado (asterisco) contornado por fibras colágenas; observam-se poucos vasos sangüíneos (cabeça de seta azul). HE

Figura 41 – Controle (guta-percha), período de 60 dias pós-implantação. Presença de macrófago (seta azul) em contato com o espaço vazio deixado pelo cimento; cápsula fibrosa grossa, contendo fibras colágenas (TC) densas e compactas e, fibroblastos (seta verde) com núcleos delgados e alongados; presença de vasos sangüíneos (cabeça de seta azul). HE

5.1.2 Avaliação morfométrica da densidade de volume (%) de fibras, fibroblastos, células inflamatórias, vasos sangüíneos e de outros componentes encontrados no tecido conjuntivo reacional.

Os dados obtidos para a densidade de volume (%) de fibras, fibroblastos, células inflamatórias, vasos sangüíneos e de outros componentes encontrados no tecido conjuntivo reacional adjacente a superfície do material implantado, de todos os materiais avaliados nos diferentes períodos experimentais encontram-se dispostos nos Apêndices A,B,C,D,E,F,G,H,I,J,K,L, M,N e O os valores individuais e, na Tabela 2 e nos Gráficos 1, 2, 3, 4 e 5 as médias e os desvios padrões.

Tabela 2 – Média e desvio padrão da média da densidade de volume (%) de fibras, fibroblastos, células inflamatórias, vasos sanguíneos e de outros componentes encontrados no tecido conjuntivo reacional adjacente a superfície do material implantado.

	15 dias	30 dias	60 dias
Endo-CPM-Sealer			
Fibras	59,87 ± 4,52	62,39 ± 4,02	59,93 ± 3,28
Fibroblastos	20,03 ± 4,53	22,46 ± 3,25	26,39 ± 1,84
Céls. Inflamatórias	5,72 ± 3,15	2,59 ± 1,52	2,78 ± 2,67
Vasos	3,10 ± 1,17	3,36 ± 1,94	1,17 ± 1,01
Outros	11,28 ± 5,21	9,20 ± 2,18	9,73 ± 2,53
Clínquer Puro			
Fibras	63,94 ± 3,38	65,78 ± 2,99	67,79 ± 2,94
Fibroblastos	23,55 ± 2,16	24,18 ± 3,09	25,69 ± 2,64
Céls. Inflamatórias	1,84 ± 0,55	1,58 ± 0,98	1,12 ± 0,76
Vasos	3,89 ± 1,77	1,48 ± 1,28	1,45 ± 1,10
Outros	6,78 ± 1,78	6,98 ± 2,43	3,95 ± 1,82
Clínquer + 2%			
Fibras	65,29 ± 1,53	66,92 ± 4,54	63,55 ± 2,65
Fibroblastos	23,86 ± 3,03	26,26 ± 4,83	27,08 ± 1,99
Céls. Inflamatórias	2,60 ± 1,72	2,48 ± 1,74	2,34 ± 1,17
Vasos	2,07 ± 1,77	2,40 ± 2,02	1,45 ± 0,71
Outros	6,18 ± 3,35	1,94 ± 1,74	5,58 ± 3,71
Clínquer + 5%			
Fibras	69,47 ± 2,02	66,29 ± 4,41	67,63 ± 3,42
Fibroblastos	22,39 ± 1,66	21,46 ± 2,79	25,49 ± 2,47
Céls. Inflamatórias	3,30 ± 1,76	4,58 ± 3,17	2,38 ± 1,72
Vasos	1,55 ± 1,14	3,26 ± 1,88	0,93 ± 0,68
Outros	3,29 ± 1,74	4,41 ± 1,83	3,57 ± 1,74
Controle			
Fibras	58,47 ± 2,26	65,72 ± 2,36	64,98 ± 4,04
Fibroblastos	25,56 ± 1,28	21,88 ± 2,57	23,17 ± 2,41
Céls. Inflamatórias	2,27 ± 0,88	1,36 ± 0,25	0,99 ± 0,54
Vasos	4,37 ± 0,58	4,20 ± 1,15	2,77 ± 0,77
Outros	9,33 ± 1,99	6,84 ± 1,49	8,09 ± 3,11

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

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

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

Gráfico 4 - Densidade de volume (%) dos vasos sangüíneos encontrados no tecido conjuntivo reacional adjacente a superfície do material implantado. Barras = Desvio padrão da média; Comparação entre períodos do mesmo material (letras iguais $p < 0,05$); e comparação entre materiais no mesmo período (símbolos iguais $p < 0,05$)

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

A análise da Tabela 2 e dos Gráficos 1, 2, 3, 4 e 5, juntamente com a análise estatística dos dados mostraram que:

- a) A densidade de volume das fibras colágenas aos 15 dias do grupo controle foi de apenas 58,47%, não apresentando diferenças estatisticamente significante com o Endo-CPM-Sealer, enquanto que, o clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio, clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio e o clínquer puro foram, respectivamente, 1,188, 1,116 e 1,093 vezes maior em relação ao controle. O clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio foi o que apresentou a maior porcentagem entre todos os cimentos neste período (69,47%), sendo 1,064 e 1,160 vezes maior em relação ao clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio e ao Endo-CPM-Sealer, respectivamente. No período de 30 dias, a densidade de volume das fibras colágenas não apresentaram diferenças estatisticamente significante entre os materiais. Já aos 60 dias, o percentual de fibras no grupo Endo-CPM-Sealer não apresentou diferença significativa em relação ao clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio, porém, foi 0,116, 0,114 e 0,078 vezes menor, respectivamente, ao clínquer puro, clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio e ao grupo controle. Na comparação entre os períodos, apenas o grupo controle apresentou diferença estatisticamente significante, aumentando, 1,042 vezes entre 15 e 30 dias, permanecendo constante até os 60 dias.
- b) A porcentagem dos fibroblastos no período de 15 dias no grupo controle foi de 25,56%, e dos materiais testados só apresentou diferença estatisticamente significante em relação ao Endo-CPM-Sealer, onde o controle foi 1,276 vezes maior. No período de 30 dias, o clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio apresentou a menor densidade de volume dos fibroblastos, porém, sem diferença estatística significante em relação do Endo-CPM-Sealer, clínquer puro e controle, mas com diferença significante em relação do clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio, o qual se apresentou 1,224 vezes maior. Já no período de 60 dias, quando o grupo controle apresentou-se menor em relação a todos os cimentos testes, observou-se uma diferença estatisticamente significante somente com o

clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio, o qual foi 1,169 vezes maior. Na comparação entre os períodos, observou-se diferença significativa no Endo-CPM-Sealer, onde a densidade de volume no período de 60 dias foi 1,317 vezes maior que no período de 15 dias. Outra diferença significativa foi observada no clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio, o qual se apresentou 0,158 vezes menor no período de 30 dias em relação ao período de 60 dias. No grupo controle a densidade de volume dos fibroblastos foi 0,144 vezes menor no período de 30 dias em relação ao período de 15 dias.

- c) A densidade de volume das células inflamatórias no período de 15 dias foi de 5,72% no grupo do Endo-CPM-Sealer, observando-se uma diferença significativa com o clínquer puro, grupo controle, clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio e clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio, sendo, respectivamente, 3,109, 2,520, 2,200 e 1,733 vezes maior. No período de 30 dias, a maior porcentagem de células inflamatórias foi obtida pelo clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio (4,58%), apresentando diferença significativa somente com o controle, o qual foi 0,703 vezes menor; já entre os outros materiais, não houve diferença significativa. No período de 60 dias, não existiu diferença significativa entre nenhum dos materiais. Em relação aos períodos experimentais, observou-se diferença estatisticamente significativa no grupo do Endo-CPM-Sealer no período de 15 dias, quando apresentou 5,72% de densidade de volume das células inflamatórias, sendo 2,208 e 2,057 vezes maior que nos períodos de 30 e 60 dias, respectivamente.
- d) A porcentagem de volume dos vasos sangüíneos no período de 15 dias foi maior no grupo controle (4,37%), apresentando diferença estatisticamente significativa somente com o clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio e o clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio, os quais mostraram-se 0,526 e 0,645 vezes menores, respectivamente, em relação ao controle. Além de apresentar diferença significativa com o controle, o clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio, também apresentou diferença significativa com o clínquer puro, o qual foi 2,510 vezes maior. No período

de 30 dias, o controle novamente apresentou a maior densidade de volume dos vasos (4,20%), mostrando diferença estatisticamente significativa somente com o clínquer puro, do qual é 2,838 vezes maior. Novamente no período de 60 dias, o grupo controle apresentou a maior porcentagem (2,77%) e mostrou diferença estatisticamente significativa com o clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio, o qual foi 0,664 vezes menor em relação ao controle. Em relação aos períodos experimentais, existiu uma diferença significativa no grupo do Endo-CPM-Sealer, onde a menor porcentagem foi observada no período de 60 dias com 1,17%; já no período de 15 e 30 dias, este cimento foi, respectivamente, 2,649 e 2,872 vezes maior que no período de 60 dias. No clínquer puro, a densidade de volume foi maior no período de 15 dias (3,89%), sendo 2,628 e 2,683 vezes maior em relação aos períodos de 30 e 60 dias respectivamente. Também foi observado que no grupo controle a densidade de volume nos vasos foi menor no período de 60 dias (2,77%), sendo 1,577 e 1,516 vezes maior nos períodos de 15 e 30 dias respectivamente. Já nos grupos do clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio e do clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes nos diferentes períodos.

- e) A densidade de volume dos outros componentes encontrados no tecido conjuntivo reacional observou-se que o Endo-CPM-Sealer, apresentou a maior porcentagem (11,28%) dando diferença significativa com o clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio e o clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio, sendo 0,452 e 0,708 vezes menores respectivamente. O clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio foi o que apresentou menos porcentagem neste período (3,29%), além, da diferença significativa com o grupo controle, onde se mostrou 0,647 vezes menor. No período de 30 dias, o clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio foi o que apresentou a menor porcentagem (1,94%), observando-se diferença estatística com o Endo-CPM-Sealer, clínquer puro, e o grupo controle, os quais se apresentaram 4,742, 3,598 e 3,526 vezes maior, respectivamente. Também observou-se diferença significativa entre o Endo-CPM-Sealer que foi 2,086 vezes maior em relação ao clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio.

Já no período de 60 dias, a maior densidade de volume dos outros componentes encontrados no tecido conjuntivo reacional foi dado novamente pelo Endo-CPM-Sealer (9,73%), que foi 1,744 2,463 e 2,725 vezes maior, respectivamente, que o clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio, clínquer puro e clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio. O grupo controle foi 2,048 e 2,266 vezes maior, respectivamente, que o clínquer puro e o clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio. Em relação à comparação entre os diferentes períodos, observou-se que a densidade de volume do clínquer puro foi menor no período de 60 dias (3,95%), em comparação com os períodos de 15 e 30 dias, onde se mostrou 0,417 e 0,434 vezes menor respectivamente. Já o clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio mostrou diferença significativa entre os períodos de 15 e 30 dias, observando-se 3,185 vezes maior no primeiro período.

5.2 Do Tempo de Presa

As médias dos tempos iniciais e finais dos cimentos avaliados, encontram-se na tabela 3.

Tabela 3 – Médias dos tempos de presa iniciais e finais dos cimentos avaliados.

Cimento	Tempo de presa inicial	Tempo de presa final
Endo-CPM-Sealer	6	22
Clínquer Puro	5	55
Clínquer + 2%	8	95
Clínquer+ 5%	10	110

Valores expressos em minutos

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

6.1 DA METODOLOGIA

6.1.1 Da Implantação Subcutânea

Estudos experimentais de materiais, em animais de laboratório, são realizados procurando-se obter resultados, para serem utilizados nas condições clínicas. O rato de laboratório *Rattus norvegicus* é um dos animais experimentais mais comumente utilizados, já que ele serve como modelo para simular doenças humanas, possibilitando assim o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos, além de ter, um metabolismo mais acelerado, permitindo assim, a obtenção de resultados num curto período de tempo. As vantagens oferecidas por este tipo de teste, segundo COSTA³³ são: execução da metodologia relativamente simples; redução do tempo no processamento laboratorial, já que não é necessário descalcificar os espécimes; possibilidade de comparar num mesmo animal a resposta tecidual de diversos materiais; custo baixo para a realização da metodologia.

No presente estudo, realizou-se a implantação de tubos de polietileno contendo cimentos no tecido subcutâneo desses ratos, baseando-se nas normas da ADA⁸ e FDI¹⁴⁸, onde é indicado como teste secundário na avaliação biológica da implantação dos materiais. Este método é um dos mais comuns para a avaliação da biocompatibilidade dos materiais dentários. Segundo a FDI¹⁴⁸, este teste está indicado para avaliar a toxicidade dos materiais “*in vivo*”. Neste estudo, foram utilizados os ratos machos, devido às variações hormonais das fêmeas.

A implantação de materiais em tubos é altamente reconhecida como método para avaliação, simulando uma condição clínica. Segundo a literatura, os implantes dos materiais endodônticos podem ser realizados em tubos de polietileno, teflon, silicone e de dentina, já que todos são bem tolerados pelo organismo. Os tubos de polietileno na implantação subcutânea foram primeiramente avaliados por TORNEK^{165,166} que observou a produção mínima ou nenhuma reação no tecido conjuntivo subcutâneo, indicando a

aceitabilidade do material como teste para avaliação dos materiais endodônticos. Segundo TORNEK^{165,166} e MAKKES¹⁰⁰, após duas semanas da implantação, os tubos de polietileno apresentaram alguns sintomas de inflamação nas regiões dos implantes, sendo que a inflamação desapareceu após três semanas. Segundo MAKKES¹⁰⁰ esta inflamação é originada como resultado do trauma do procedimento cirúrgico no momento da implantação do tubo.

Posteriormente, PHILLIPS¹²³, LANGELAND et al.⁹⁵; HOLLAND et al.^{64,65,66}; ZANONI et al.¹⁷⁸; MOLLOY et al.¹¹¹; e GORDYUSUS; ETIKAN; GOKOZ⁵⁷, MOTTA et al.¹¹⁶, KOWALSKI et al.⁹⁴, SHAHI¹³⁹, utilizaram também os tubos de polietileno, onde foi observada a ausência de inflamação frente ao material. ECONOMIDES et al.⁴¹; KOLOKURIS et al.⁹¹; OLSSON; SLIWKOWSKI; LANGELAND¹¹⁹; utilizaram tubos de teflon e ZMENER; GUGLIELMOTTI; CABRINI¹⁸⁰ implantaram tubos de silicone rígidos.

HOLLAND et al.^{68,72,75} empregaram tubos de dentina preparados a partir de raízes de dentes humanos, para avaliação do MTA e cimento Portland em tecido subcutâneos de ratos. Os autores davam preferência aos tubos de dentina em comparação aos tubos de polietileno e teflon, para poder observar a ação dos materiais nas paredes dentinárias. A escolha para este estudo foi de tubos de polietileno, devido à facilidade para sua obtenção e também, pela flexibilidade que apresentam, o qual permite a movimentação dos animais sem produzir irritação da pele do mesmo (PHILLIPS¹²³).

Pese a que OLSSON; SLIWKOWSKI; LANGELAND¹¹⁹ observaram que, ao utilizar uma das extremidades fechadas, perdeu-se área para ser avaliada, optamos por selar uma das extremidades com guta-percha para empregá-la como controle, já que é recomendado o fechamento de uma das extremidades por TORNEK^{165,166} e ECONOMIDES et al.⁴¹, para reduzir a possibilidade de extrusão do material, que é capaz de produzir uma inflamação maior como resposta tecidual. Num estudo realizado por TORNEK^{165,166}, observou-se que o extravasamento foi maior nos casos onde as extremidades do tubo estavam abertas.

Segundo as normas da FDI¹⁴⁸, recomenda-se a implantação de quatro implantes por animal, servindo o quarto como controle (vazio). Em nosso estudo, realizamos os quatro implantes, porém, como controle foi

utilizado o lado selado com guta-percha, aproveitando assim, o quarto tubo para avaliar um cimento a mais.

A implantação do tubo de polietileno no tecido subcutâneo pode ser realizada por meio de um trocarte como foi sugerido por BORTOLUZZI¹⁸, ou utilizando-se de uma pinça após a confecção de bolsas no tecido subcutâneo por meio uma tesoura de ponta romba. Neste trabalho, optou-se pela colocação com o auxílio de um trocarte, que produz uma ferida de menor tamanho, restringindo o deslocamento do tubo, já que quando se confecciona a bolsa, se produz o descolamento de bastante tecido, o que pode produzir a movimentação dos tubos no interior do tecido, podendo haver uma possível resposta inflamatória, devido a esta movimentação. Com o uso da pinça, no momento de fazer a compressão, para pegar e colocar o tubo nas bolsas confeccionadas, pode produzir a extrusão do material, proporcionando assim uma resposta tecidual. A extremidade do tubo que continha o cimento experimental foi colocada para fora do trocarte, assim o trocarte fazia pressão sobre a guta-percha no momento de inserir o tubo e os materiais testados ficaram do lado onde não ocorreu trauma cirúrgico.

Quanto aos períodos experimentais de avaliação, pode-se observar que não existe consenso entre os autores, já que na literatura observam-se períodos de 7, 15, 21 dias; períodos de 7, 30 e 60 dias e períodos de 15, 30 e 60 dias. Baseados no estudo de MORETON et al.¹¹⁵ e BORTOLUZZI¹⁸, optamos pelos períodos de 15, 30 e 60 dias.

Após a morte dos animais, coletaram-se os tubos em conjunto com o tecido adjacente e procedeu-se ao preparo das amostras para análise microscópica. Os tubos de polietileno foram eliminados das peças de tecido subcutâneo com extremo cuidado para não lesar a cápsula e os tecidos foram incluídos em parafina para o preparo das lâminas. Os cortes semi-seriados utilizados neste estudo foram de 5µm como é recomendado pela ADA⁶, os quais foram realizados no sentido longitudinal do tubo, pegando as duas extremidades da cápsula num mesmo corte, avaliando-se assim numa mesma lâmina o lado do cimento experimental e do controle. Se obtiveram 5 lâminas de cada amostra e em cada lâmina obtiveram-se quatro cortes, com o objetivo de avaliar o melhor de cada lâmina.

6.1.2 Da Obtenção do Tempo de Presa

Em relação à determinação do tempo de presa, observou-se que TORABINEJAD et al.¹⁶¹ obedeceram as normas nº 30 da ADA; FIDEL et al.⁵⁴ utilizaram as normas nº 57 da mesma. CHNG et al.³¹ e ISLAM; CHNG; YAP⁸¹, empregaram as normas nº 6876 da ISO. O método mais empregado, segundo a literatura, é aquele no qual se obtém o tempo de presa somente com a agulha de Guillmore 113,5 gramas (FIDEL et al.⁵⁴, TORABINEJAD et al.¹⁶¹, MCMICHEN¹⁰⁴). O presente estudo foi desenvolvido seguindo a recomendação nº 57 da ADA⁷, realizando-se uma modificação, que foi a inclusão da agulha de Guillmore de 456,5 gramas, além da de 113,5 gramas como sugeriu VASCONCELOS¹⁶⁹ em 2006.

A agulha de 113,5 gramas nos permitiu obter o tempo de presa inicial e a de 456,5 gramas, o tempo de presa final dos cimentos experimentais.

6.2 DOS MATERIAIS EMPREGADOS

6.2.1 A Escolha do Endo-CPM-Sealer

O Endo-CPM-Sealer é o primeiro cimento para obturação dos canais radiculares à base de trióxidos minerais, desenvolvido pelo Dr. Gabriel De Castro na Argentina. A escolha deste cimento ocorreu devido à falta de estudos biológicos que respaldem seu uso na clínica odontológica. Atualmente somente existem estudos avaliando sua capacidade de selamento marginal (BORTOLINI et al.¹⁷; SILVEIRA; LAGE-MARQUES¹⁴¹) e a composição química (FERREIRA et al.⁵²).

6.2.2 A Escolha do clínquer do cimento Portland

Muitos materiais já foram estudados e indicados nas cirurgias parendodônticas. No início da década dos anos 90, na Universidade de Loma Linda no estado da Califórnia (Estados Unidos), foi desenvolvido pelo Professor Mahmoud Torabinejad o MTA. O primeiro trabalho publicado referente ao MTA foi realizado por LEE; MONSEF; TORABINEJAD⁹⁶, em 1993, onde avaliaram a

capacidade de selamento desse material no tratamento de perfurações radiculares comparando-a com a do amálgama e do IRM. Concluíram que o MTA foi o que apresentou menor infiltração em relação aos outros materiais. Segundo os autores, os principais componentes do MTA são: silicato tricálcico, silicato dicálcico, óxido tricálcico e óxido silicato. Além destes, também apresenta pequenas quantidades de outros óxidos minerais e óxido de bismuto com a finalidade de conferir-lhe uma melhor radiopacidade.

A partir deste trabalho, foram realizados outros estudos avaliando sua biocompatibilidade, capacidade de selamento marginal, capacidade antibacteriana, capacidade de estimulação celular, citotoxicidade. O MTA começou a ser utilizado no tratamento de perfurações dentais^{12,22,23,29,46,53,62,71,73,76,84,98,99,109,117,121,124,144,153,160,172,176}, nas cirurgias parendodônticas^{3,11,14,15,16,19,29,42,73,109,126,138,146,153,155,156,159,160,163,177}, em proteções pulpares^{2,4,9,29,48,49,85,109,120,125,153,168}, pulpotomias^{10,29,43,50,70,73,86,102,103,106,107,109,153}, na obturação de canais radiculares^{29,67,69,170}, reabsorções dentárias^{29,77,108,109,135} e outros.

O MTA foi comparado com o cimento Portland por WUCHERPFENNIG; GREEN¹⁷⁴, em 1999. Segundo os autores, ambos eram compostos principalmente por cálcio, fosfato e silício. Avaliaram a biocompatibilidade dos cimentos em questão, em culturas de células osteoblásticas (MG-63), onde foi observado que ambos os materiais promoveram, de forma semelhante, a formação de matriz mineralizada e, no capeamento pulpar em molares de ratos, onde mostraram que ambos os materiais têm efeito semelhante nas células da polpa, com deposição de dentina reparadora em alguns espécimes com ambos os materiais. Os autores concluíram que o cimento Portland pode ser um cimento ideal como o MTA.

Posteriormente, ESTRELA, et al.⁴⁷; DEAL et al.³⁵; GUARIENTI; OSINAGA; FIGUEIREDO⁵⁹; FUNTEAS; WALLACE; FOCHTMAN⁵⁵; CAMILLERI et al.²⁷; DAMMASCHKE et al.³⁴; FERREIRA et al.⁵²; CAMILLERI et al.²⁶; ISLAM; CHNG; YAP⁸¹; ISLAM; CHNG; YAP⁸²; e SONG et al.¹⁴⁵ indicaram que a composição química do MTA era a mesma do cimento Portland; e que a diferença encontrava-se em só um elemento, o óxido de bismuto, presente no MTA, responsável pela radiopacidade do material.

A biocompatibilidade do cimento Portland foi estudada por DE DEUS et al.³⁶; RIBEIRO et al.¹²⁸; RIBEIRO et al.¹²⁹; RIBEIRO et al.¹³⁰; SAFAVI;

NICHOLS¹³¹; SAIDON et al.¹³³; SIPERT et al.¹⁴³; TANOMARU FILHO et al.¹⁵¹; HOLLAND et al.⁷²; MORAES et al.¹¹³; e TRINDADE; OLIVEIRA; FIGUEIREDO¹⁶⁷, onde observaram o comportamento similar de ambos os materiais.

Diversos estudos demonstram a semelhança do cimento Portland com a do MTA^{36,37,69,70,72,84,106,107,113,128,129,130,131,132,133,143,151,167}. A desvantagem desses dois materiais é o tempo de presa elevado. TORABINEJAD et al.¹⁶¹ (1995) obtiveram o tempo de presa final do MTA com 165 minutos; DEAL et al.³⁵ (2002) obtiveram o tempo de presa final do MTA com 156 minutos e do cimento Portland com 159 minutos; CHNG et al.³¹ (2005) obtiveram o tempo de presa inicial do MTA com 70 minutos, e o tempo de presa final foi de 175 minutos; ISLAM et al.⁸¹ (2006) obtiveram o tempo de presa inicial do MTA e do cimento Portland com 70 minutos, e o tempo de presa final no cimento Portland foi de 170 minutos e de 175 minutos para o MTA.

Sabe-se que o clínquer constitui uma etapa da fabricação do cimento Portland e ele se apresenta na forma de pequenas esferas (Figura 3), as quais após serem moídas recebem o sulfato de cálcio, dando como resultado final, o cimento Portland. O sulfato de cálcio entra na composição do cimento Portland para retardar o tempo de presa dando-lhe assim trabalhabilidade. Segundo CAMILLERI et al.²⁶ o tempo de presa do MTA é devido à presença do sulfato de cálcio (gesso) na sua composição. O cimento Portland também contém quantidades de sulfato de cálcio (GOBBO⁵⁶). Assim, a escolha pelo clínquer do cimento Portland, foi pelo fato deste não conter na sua composição o sulfato de cálcio; de modo que uma vez pulverizado e misturado com água, apresentasse um tempo de presa mais rápido. A agregação de 2 e 5% do sulfato de cálcio ao clínquer torná-lo-ia um cimento com presa mais lenta como acontece com alguns MTA.

Uma análise do comportamento tecidual e do tempo de presa desse produto traz subsídio importante ao conhecimento do MTA.

6.2.3 A escolha do controle

As recomendações feitas pela ADA^{6,8} e a ISO⁸⁰, recomendam como controle o uso da lateral do tubo de polietileno. Na literatura, diferentes autores

indicam como controle, o uso de um tubo vazio (ECONOMIDES et al.⁴¹; KOLOKURIS et al.⁹¹; KOLOKURIS et al.⁹²; HOLLAND et al.⁶⁸, HOLLAND et al.⁷⁴).

Neste estudo, utilizamos como controle a guta-percha, com a qual foi fechada uma das extremidades dos tubos. Poderíamos ter utilizado como controle as paredes do tubo, mas optamos pela guta-percha por ser um material utilizado constantemente na endodontia durante a obturação dos canais, a qual é bem tolerado pelos tecidos vivos^{66,78,97,118,140,147,173}. Também poderia ter sido utilizado um tubo vazio como controle, mas, isto poderia comprometer a estabilização do material dentro do mesmo.

6.3 DOS RESULTADOS

6.3.1 Da Implantação Subcutânea

Neste estudo, foi possível observar que todos os materiais testados apresentaram um comportamento biológico semelhante, já que segundo a análise descritiva e a avaliação morfométrica, houve pequenas diferenças entre todos os cimentos experimentais, observando-se uma melhor resposta do tecido subcutâneo frente ao clínquer do cimento portland puro e ao grupo controle (Tabela 2; Gráficos 1, 2, 3, 4 e 5).

Como ainda não existem na literatura, trabalhos onde se avalie a biocompatibilidade em animais do Endo-CPM-Sealer e do clínquer do cimento Portland, realizamos as comparações destes materiais com o MTA e o cimento Portland, já que a composição destes dois materiais tem como base na sua composição, o clínquer do cimento Portland.

Nossa referência neste estudo foi a guta-percha, utilizada como controle, a qual no período de 15 dias encontrava-se circunscrita por uma cápsula fibrosa fina com presença de fibroblastos e células inflamatórias crônicas (macrófagos, linfócitos e células gigantes multinucleadas) em todos os períodos, sendo que estas células inflamatórias foram diminuindo para os períodos de 30 e 60 dias. No período de 15 dias, o clínquer do cimento Portland puro foi o que apresentou a menor quantidade de células inflamatórias, inclusive quando comparado com o grupo controle. Os cimentos

acrescidos com sulfato de cálcio apresentaram uma reação inflamatória maior que o grupo controle e o clínquer do cimento Portland puro, porém, foi menor que o Endo-CPM-Sealer, que apresentou a maior reação inflamatória, apresentando diferença estatisticamente significativa com todos os demais materiais.

Ao mesmo tempo que o Endo-CPM-Sealer apresentou a maior reação tecidual, conseguiu-se observar, que as amostras deste grupo apresentaram maior quantidade de cimento extravasado (Figura 23) em todos os períodos (histologicamente conseguiu-se observar fragmentos de material de coloração escura), provavelmente, devido à consistência do material que é mais fluida que a do clínquer do cimento Portland. Segundo OLSSON; SLIWKOWSKI; LANGE LAND¹¹⁹, o extravasamento do material pode ter ocorrido devido à movimentação dos animais, o qual traz como consequência a movimentação dos tubos implantados. Considerando que o Endo-CPM-Sealer é um selador de canais radiculares, esta observação deve ser tomada em conta no momento da aplicação clínica, para evitar uma possível reação inflamatória intensa. Segundo MORAES¹¹², quando ocorre extravasamento de cimento, a área de contato do material com o tecido conjuntivo aumenta e, assim, há uma resposta inflamatória maior, tanto devido à ação irritante do material como também devido à própria irritação física.

A maior densidade de volume das fibras colágenas neste período esteve representada pelo clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio (média=69,47), seguido pelo clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio (média=65,29), clínquer puro (média=63,94), Endo-CPM-Sealer (média=59,87) e finalmente a menor densidade foi para o grupo controle (média=58,47). Houve diferença estatisticamente significativa entre o clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio com todos os grupos; também entre o clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio com o Endo-CPM-Sealer e o controle; o controle também apresentou diferença estatisticamente significativa com o clínquer puro.

Quanto aos fibroblastos, o grupo controle apresentou a maior densidade de volume (média=25,56), seguido pelo clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio (média=23,86), clínquer puro (média=23,55), clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio (média=22,39) e, finalmente, o Endo-

CPM-Sealer apresentou a menor densidade fibroblástica (média=20,03). Somente houve diferença estatística significativa entre o controle e o Endo-CPM-Sealer.

O grupo controle também teve a maior formação de vasos (média=4,37), seguido pelo clínquer puro (média=3,89), Endo-CPM-Sealer (média=3,10), clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio (média=2,07) e finalmente a menor formação de vasos foi apresentada pelo clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio (média=1,55). Observou-se diferença estatisticamente significativa entre o controle e os cimentos a base de clínquer acrescidos com sulfato de cálcio e entre o clínquer puro e o clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio.

No período de 30 dias, observou-se um aumento na densidade da cápsula fibrosa, a qual se apresentou permeada por fibroblastos e células inflamatórias crônicas, predominantemente, macrófagos e células gigantes multinucleadas, situadas próximas ao contorno do espaço deixado pelo cimento do tubo de polietileno. HOLLAND^{72,74} também observou neste mesmo período, a presença do infiltrado inflamatório crônico, com presença de células inflamatórias, quando implantou no dorso de ratos MTA e cimento Portland em tubos de dentina.

A densidade de volume das células inflamatórias foi menor em quatro grupos em relação ao primeiro período; houve diferença estatística significativa no Endo-CPM-Sealer, já que diminuiu bastante em relação ao período anterior. A maior densidade de volume destas estava representada pelo clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio (média=4,58), seguido pelo Endo-CPM-Sealer (média=2,59), clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio (média=2,48), clínquer puro (média=1,58) e finalmente o controle apresentou a menor densidade (média=1,36). Somente existiu diferença estatística significativa entre o clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio e o grupo controle.

O clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio foi o único material que apresentou densidade de volume de células inflamatórias, maior em relação ao primeiro período, fato esse também observado por BORTOLUZZI¹⁸, quando avaliou o cimento Portland branco e três tipos de MTA, obtendo maior reação inflamatória neste período em todos os materiais.

A densidade de volume das fibras foi semelhante para todos os grupos neste período, onde não houve diferença estatisticamente significativa entre todos os materiais. Analisando a diferença entre os períodos observou-se que, o grupo controle, teve um aumento significativo em relação ao anterior, já o Endo-CPM-Sealer, o clínquer do cimento Portland puro e o clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio também aumentaram, mas não foi significativo. O único material que diminuiu na densidade das fibras foi o clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio que também não foi significativo.

A densidade de volume dos fibroblastos no Endo-CPM-Sealer, clínquer do cimento Portland puro e clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio também aumentou em relação ao período anterior. Já o clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio e o grupo controle diminuíram, mas somente este último foi significativo. Observou-se que o clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio apresentou a maior densidade de volume de fibroblastos (média=26,26), seguido pelo clínquer puro (média=24,18), Endo-CPM-Sealer (média=22,46), controle (média=21,88) e por último o clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio (média=21,46). Na comparação feita entre todos os materiais dentro deste mesmo período, somente houve diferença estatisticamente significativa entre o clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio e o clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio.

Ainda no período de 30 dias, a densidade de volume dos vasos foi maior no grupo controle em relação aos demais materiais. Observou-se que os cimentos experimentais tiveram aumento na proliferação angioblástica, com exceção do clínquer puro, que apresentou diminuição estatisticamente significativa em relação ao período anterior e ao grupo controle deste mesmo período.

Já aos 60 dias, observou-se uma diminuição e inclusive ausência das células inflamatórias nos cimentos experimentais, com exceção do Endo-CPM-Sealer, que aumentou muito pouco em relação ao segundo período. Não existiu diferença estatisticamente significativa entre os materiais, porém, o clínquer do cimento Portland puro e o grupo controle, foram os materiais que apresentaram a menor porcentagem, seguidos pelos cimentos acrescidos com sulfato de cálcio. Resultados semelhantes foram observados por BORTOLUZZI¹⁸, em 2005, quando avaliou a biocompatibilidade do MTA e

cimento Portland branco no tecido subcutâneo de ratos, onde mostrou que, aos 60 dias, a resposta do tecido subcutâneo foi de uma inflamação crônica que no princípio, era mais intensa e com o passar do tempo tornou-se mais discreta, sinalizando a biocompatibilidade dos materiais.

A maior densidade de volume das fibras foi observada no clínquer puro (média=67,79), seguido pelo clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio (média=67,63), controle (média=64,98), clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio (média=63,55) e por último o Endo-CPM-Sealer (média=59,93), que foi o único cimento a apresentar diferença estatística significativa com o grupo controle, clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio e clínquer puro, na comparação realizada no mesmo período. Já na comparação dos cimentos em relação ao período anterior, o número das fibras do clínquer puro e do clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio aumentaram, enquanto que no Endo-CPM-Sealer diminuiu, mas, não houve diferença estatisticamente significativa. Também, notou-se que o clínquer do cimento Portland puro foi o único cimento deste estudo que apresentou aumento constante em relação ao tempo, na densidade das fibras, resultado semelhante no trabalho realizado por TRINDADE; OLIVEIRA; FIGUEIREDO¹⁶⁷ que avaliaram o cimento Portland no tecido subcutâneo de ratos.

A densidade de volume dos fibroblastos aos 60 dias, foi novamente maior para o clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio (média=27,08), seguido pelo Endo-CPM-Sealer (média=26,39), clínquer puro (média=25,69), clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio (média=25,49) e por último, o controle (média=23,17), observando-se diferença estatisticamente significativa entre o clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio e o grupo controle no mesmo período. Todos os cimentos experimentais tiveram um aumento no número de fibroblastos em relação aos períodos anteriores, apresentando diferença estatisticamente significativa somente no clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio. Já o controle apresentou uma diminuição não significativa.

Neste mesmo período (60 dias), a densidade de volume dos vasos, foi menor em todos os materiais, quando comparados com seus dois períodos anteriores. Observou-se diferença estatisticamente significativa no Endo-CPM-Sealer, em relação aos seus dois períodos anteriores; também no clínquer puro em comparação com o primeiro período e no controle, com seus dois períodos

anteriores. Novamente, a maior densidade, foi observada no grupo controle (média=2,77), seguido pelo clínquer puro e clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio (média=1,45), seguido pelo Endo-CPM-Sealer (média=1,17) e por último o clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio (média=0,93). Dentro do mesmo período houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e o clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio.

Comparando globalmente os materiais experimentais em relação aos períodos, observamos que: em relação à densidade de volume das células inflamatórias, o clínquer do cimento Portland puro foi o que apresentou o comportamento mais semelhante ao grupo controle, apresentando-se nos três períodos com quase a mesma porcentagem de células inflamatórias, inclusive menor no período de 15 dias; já os cimentos acrescidos com sulfato de cálcio, tiveram uma porcentagem maior, mas, semelhantes entre si. Na densidade das fibras colágenas observou-se que o clínquer do cimento Portland puro, foi o único material que mostrou um aumento constante em relação ao tempo, situação essa não ocorrida nos outros materiais. Na quantidade de fibroblastos, observou-se um aumento com o decorrer do tempo em todos os materiais. Já na densidade de volume dos vasos sanguíneos, a porcentagem foi diminuindo com o tempo, no caso do clínquer puro e grupo controle; os outros materiais, mostraram um aumento no segundo período e uma diminuição no terceiro.

Observou-se em todos os períodos experimentais que, como resposta à implantação dos materiais no tecido subcutâneo, ocorreu uma inflamação crônica, a qual se apresentou mais intensa no primeiro período (15 dias) e foi diminuindo nos períodos de 30 e 60 dias. Este fato também observado por MORETTON et al.¹¹⁵, quando implantaram MTA no tecido subcutâneo de ratos, e observaram uma inflamação severa no período de 15 dias, que foi diminuindo aos 30 e 60 dias. TRINDADE; OLIVEIRA; FIGUEIREDO¹⁶⁷, quando avaliaram o comportamento biológico do cimento Portland, isolado e acrescido de óxido de bismuto em diferentes proporções, em comparação ao ProRoot MTA, também constataram que a inflamação geral diminuiu significativamente no decorrer dos tempos experimentais em todos os materiais avaliados.

Observamos poucas células características da inflamação aguda (neutrófilos) em todos os períodos avaliados, já que estes foram altos, pelo

qual achamos, neste estudo, a falta de um período menor, por exemplo, sete dias, para poder observar o comportamento dos materiais numa fase aguda. A maior parte das células encontradas neste estudo, foram características de uma inflamação crônica. MOTTA et al.¹¹⁶ e KOWALSKI et al.⁹⁴ observaram a presença de neutrófilos, além de macrófagos, no período de sete dias, quando implantaram tubos de polietileno contendo MTA no tecido subcutâneo e submucoso de ratos; já, nos períodos posteriores, observaram diminuição no número destas células, observando predominantemente os macrófagos.

A biocompatibilidade do cimento Portland no tecido subcutâneo de ratos também foi analisada por CAMPOS QUINTANA; LLAMOSAS HERNANDEZ; MORALES DE LA LUZ²⁸, onde observaram que, aos oito dias de implantados os materiais, foi mais notória a presença de células polimorfonucleares, enquanto que nos períodos de 15, 30 e 45 dias o infiltrado inflamatório caracterizou-se pela presença de macrófagos e células linfóides. A resposta inflamatória observada foi de leve a moderada nas amostras do cimento Portland e do controle (tubo vazio).

Nosso estudo mostrou resultados semelhantes ao de SUMER et al.¹⁵⁰, quando avaliaram a biocompatibilidade do MTA no tecido subcutâneo de ratos. Observaram uma resposta inflamatória inicial severa, que foi diminuindo aos 30 e 60 dias. Segundo os autores, isto pode ter acontecido pelo pH alto que o material apresenta e a geração de calor produzida enquanto o cimento toma presa. A formação da cápsula fibrosa foi observada desde o 15º dia em todos os grupos, o que indica que os materiais são bem tolerados pelos tecidos.

HOLLAND et al.^{68,72,74,75} observaram a formação de calcificações em contato com o material, quando implantaram tubos de dentina contendo MTA e cimento Portland no tecido subcutâneo de ratos, comparando-os com o hidróxido de cálcio; os autores relataram que isto foi possível pela presença de óxido de cálcio na composição do MTA e provavelmente na do cimento Portland, onde este óxido de cálcio pode reagir com os fluidos tissulares formando hidróxido de cálcio. Os autores concluíram que, possivelmente, o mecanismo de ação com o qual o MTA produz deposição de tecido mineralizado, pode ser similar ao do hidróxido de cálcio. Segundo TORABINEJAD et al.¹⁶¹ a formação de tecido mineralizado pode ocorrer devido

ao alto pH do MTA, semelhante à do hidróxido de cálcio. A presença dessas mineralizações também foi constatada por MORETTON et al.¹¹⁵, MORAIS et al.¹¹⁴, e YALTIRIK et al.¹⁷⁵.

Em nosso estudo, não foram observados traços de cristais ou áreas sugestivas de calcificações em contato com o material implantado, provavelmente devido ao uso de tubos de polietileno e não de dentina e à técnica de coloração utilizada, já que nos trabalhos onde foi observada a presença de calcificações foi utilizada a técnica Von Kossa e em nosso estudo foi utilizada a técnica de Hematoxilina e Eosina. Resultados semelhantes foram encontrados por MOTTA et al.¹¹⁶, em 2003, quando avaliaram a resposta tecidual do tecido subcutâneo de ratos frente a implantes de MTA em tubos de polietileno e não observaram calcificações no tecido conjuntivo, nem nas peças coradas com a técnica Von Kossa.

Podemos considerar que nos três cimentos à base do clínquer do cimento Portland, não houve diferença estatisticamente significativa em nenhum dos parâmetros avaliados durante o último período mostrando que os mesmos são biocompatíveis. O clínquer do cimento Portland puro apresentou resultados semelhantes ao grupo controle quanto à resposta inflamatória nos três períodos, porém, não podem ser indicados na clínica odontológica, já que às vezes este material pode apresentar impurezas, dependendo da sua origem.

6.3.2 Do Tempo de Presa

Com relação ao tempo de presa dos materiais, encontram-se trabalhos com tempo de presa inicial para o MTA de 70 minutos (CHNG et al.³¹; ISLAM et al.⁸¹); 15 minutos para o ProRoot, oito minutos para o MTA-Ângelus e 22 minutos para o CPM (VASCONCELOS¹⁶⁹). Os tempos de presa final para o MTA, apresentam-se, de 165 minutos (TORABINEJAD et al.¹⁶¹); 156 minutos (DEAL et al.³⁵); 175 minutos (CHNG et al.³¹; ISLAM et al.⁸¹). Para o cimento Portland encontram-se tempos de presa inicial com 70 minutos (ISLAM et al.⁸¹) e o tempo de presa final com 159 minutos (DEAL et al.³⁵); 170 minutos (ISLAM et al.⁸¹); 130 minutos para o ProRoot, 32 minutos para o MTA-Ângelus e 61 para o CPM (VASCONCELOS¹⁶⁹). Os cimentos MTA-Ângelus e CPM apresentam menor tempo de presa, provavelmente, devido à ausência de

sulfato de cálcio, nas suas composições. Não encontramos na literatura, referências quanto ao tempo de presa do clínquer do cimento Portland e nem do Endo-CPM-Sealer.

No presente estudo, observou-se que o clínquer do cimento Portland puro, apresentou o menor tempo de presa inicial com cinco minutos, seguido pelo Endo-CPM-Sealer com seis minutos. Os maiores tempos estiveram representados pelos cimentos acrescidos com sulfato de cálcio. O que contém 2% de sulfato de cálcio apresentou um tempo de presa inicial de oito minutos, e o que contém 5%, apresentou dez minutos. Isto demonstra claramente o efeito retardador do tempo de presa acrescido pelo sulfato de cálcio.

Já nos tempos de presa final, o Endo-CPM-Sealer apresentou o menor valor, com um tempo de 22 minutos, seguido pelo clínquer do cimento Portland puro com 55 minutos e, finalmente, os acrescidos com 2% e 5% de sulfato de cálcio com tempos de 95 e 110 minutos respectivamente.

Segundo a bula do Endo-CPM-Sealer, o tempo de trabalho é de 30 minutos, porém podemos observar, em nosso estudo, que o cimento já toma presa aos 22 minutos depois da manipulação.

Segundo FIDEL et al.⁵⁴, um cimento deve propiciar um bom tempo de trabalho clínico, porém, deve endurecer num tempo médio de no máximo uma hora. GROSSMAN⁵⁸ acredita que o tempo ideal de presa deve começar aos 15 minutos, para dar ao operador um tempo adequado para trabalhar, já que muitas vezes devem-se realizar controles radiográficos para posteriormente realizar algum ajuste. Por outro lado, um cimento não deve demorar mais de uma hora para tomar presa já que pode ocorrer maior infiltração.

7 CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

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

1. Em relação à implantação subcutânea:

- Todos os cimentos à base de clínquer do cimento Portland produziram uma reação semelhante, não havendo diferença estatisticamente significativa entre eles.

- O Endo-CPM-Sealer, produziu a maior resposta inflamatória nos períodos de 15 e 60 dias, mostrando diferença estatisticamente significativa em relação a todos os materiais somente no primeiro período.

- O grupo controle e o clínquer do cimento Portland puro produziram menor reação inflamatória no período de 60 dias, mas, não houve diferença estatisticamente significativa entre todos os grupos.

2. Em relação ao tempo de presa:

- O menor tempo de presa inicial foi dado pelo clínquer puro, seguido pelo Endo-CPM-Sealer, clínquer + 2% de sulfato de cálcio e clínquer + 5% de sulfato de cálcio.

- O menor tempo de presa final foi dado pelo Endo-CPM-Sealer, seguido pelo clínquer puro, clínquer + 2% de sulfato de cálcio e clínquer + 5% de sulfato de cálcio.

- A adição do sulfato de cálcio ao clínquer aumenta o tempo de presa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- 1 ABDULLAH, D. et al. An evaluation of accelerated Portland cement as a restorative material. **Biomaterials**, v.23, n.19, p.4001-10, Oct. 2002.
- 2 ABEDI, H.R. et al. The use mineral tri-oxide aggregate cement (MTA) as a direct pulp capping agent. **J Endod**, v.22, n.4, p.199, Apr. 1996. /Abstract n. 44/
- 3 ADAMO, H.L. et al. A comparison of MTA, Super EBA, composite and amalgam as root-end filling materials using bacterial microleakage model. **Int Endod J**, v.32, n.3, p.197-203, May 1999.
- 4 AEINEHCHI, M. et al. Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium hydroxide as pulp-capping agents in human teeth: a preliminary report. **Int Endod J**, v.36, n.3, p.225-31, Mar. 2003.
- 5 AL-HEZAIMI, K. et al. Comparison of Antifungal Activity of White-Colored and Gray-Colored Mineral Trioxide Aggregate (MTA) at Similar Concentrations Against *Candida albicans*. **J Endod**, v.32, n.4, p.365-7, Apr. 2006.
- 6 AMERICAN DENTAL ASSOCIATION - Council on Dental Materials and Devices of the American Dental Association. **J Amer Dent Assoc**, v.84, p.375-95, Feb. 1972.
- 7 AMERICAN DENTAL ASSOCIATION - Council on Dental Materials. **Specification #57 for endodontic filling materials**, Chicago, p.147-69, 1984.

* Normas recomendadas para o uso no âmbito da Universidade de São Paulo, com base no documento "Referências Bibliográficas: exemplos", emanados do Conselho Supervisor do Sistema Integrado de Bibliotecas da USP em reunião de 20 de setembro de 1990.

- 8 AMERICAN NATIONAL STANDARDS / AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. **Document nº41 for recommended standard practices for biological evaluation of dental materials**. New York, ANSI/ADA, 1982.
- 9 ANDELIN, W.E. et al. Identification of hard tissue after experimental pulp capping using dentin sialoprotein (DSP) as a marker. **J Endod**, v.29, n., p.646-50, 2003.
- 10 APAYDIN, E.S.; SHABAHANG, S.; TORABINEJAD, M. Hard-Tissue Healing After Application of Fresh or Set MTA as Root-End-Filling Material. **J Endod**, v.28, n.3, p.252, Mar. 2002. /Abstract n. 71/
- 11 APAYDIN, E.S.; SHABAHANG, S.; TORABINEJAD, M. Hard-Tissue Healing After Application of Fresh or Set MTA as Root-End-Filling Material. **J Endod**, v.30, n.1, p.21-4, Jan. 2004.
- 12 ARENS, D.E.; TORABINEJAD, M. Repair of furcal perforations with mineral trioxide aggregate – two cases reports. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.82, n.1, p.84-8, July 1996.
- 13 ASRARI, M.; LOBNER, D. In vitro neurotoxicity evaluation of root-end-filling materials. **J Endod**, v.29, n.11, p.743-6, Nov. 2003.
- 14 BAEK, S.H.; PLENK, H.; KIM, S. Periapical tissue responses and cementum regeneration with amalgam, SuperEBA, and MTA as root-end filling materials. **J Endod**, v.31, n.6, p.444-9. June 2005.
- 15 BERNABÉ, P.F.E.; HOLLAND, R. Cirurgia paraendodôntica: como praticá-la com embasamento científico. In: ESTRELA, C. **Ciência endodôntica**. São Paulo, Artes médicas, 2004. Cap.16, p.657-797.

- 16 BERNABÉ, P.F.E. et al. Comparative study of MTA and other materials in retrofilling of pulpless dogs' teeth. **Braz Dent J**, v.16, n.2, p.149-55, maio/ago. 2005.
- 17 BORTOLINI, M.C.T. et al. Capacidade de selamento de cimentos endodônticos ao *Enterococcus faecalis* (estudo in vitro). **Braz Oral Res**, v.19, p.163, 2005. Supplement. /Abstract n. Pb054/
- 18 BORTOLUZZI, E.A. **Avaliação da reação do tecido subcutâneo de ratos à implantação dos cimentos MTA e Portland brancos acrescidos de radiopacificadores**. Bauru, 2005. 175p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
- 19 BORTOLUZZI, E.A.; JUAREZ-BROON, N.; BRAMANTE, C.M. Avaliação da capacidade seladora do MTA e cimento portland com ou sem cloreto de cálcio em obturações retrógradas. **Braz Oral Res**, v.18, p.213, Sept. 2004. Supplement. /Abstract n. Pc082/
- 20 BRAMANTE, C.M.; BORTOLUZZI, E.A.; JUÁREZ-BROON, N. Agregado Trióxido Mineral (MTA) como plug para la obturación de conductos radiculares: descripción de la técnica y caso clínico. **Endodoncia**, v.22, n.3, p.155-61, jul./sept. 2004.
- 21 BRAZ, M.G. et al. Evaluation of genetic damage in human peripheral lymphocytes exposed to mineral trioxide aggregate and Portland cements. **J Oral Rehabil**, v.33, n.3, p.234-9, Mar. 2006.
- 22 BRITTO, L.R. et al. Delay in setting of MTA by blood proteins: a pilot study. **J Endod**, v.29, n.4, p.309, Apr. 2003. /Abstract n. PR44/
- 23 CAICEDO, R. et al. Sealing capacity of super EBA®, ProRoot® MTA, Diaket®, in the repair of root perforations. **J Endod**, v.26, n.9, p.553, Sept. 2000. /Abstract n. PR2/

- 24 CAMILLERI, J.; PITT FORD, T.R. Mineral trioxide aggregate: a review of the constituents and biological properties of the material. **Int Endod J**, v.39, n.10, p.747-54, Oct. 2006. /Review/
- 25 CAMILLERI, J. et al. Biocompatibility of two commercial forms of mineral trioxide aggregate. **Int Endod J**, v.37, n.10, p.699-704, Oct. 2004.
- 26 CAMILLERI, J. et al. The chemical constitution and biocompatibility of accelerated Portland cement for endodontic use. **Int Endod J**, v.38, n.11, p.834-42, Nov. 2005.
- 27 CAMILLERI, J. et al. The constitution of mineral trioxide aggregate. **Dent Mater**, v.21, n.4, p.297-303, Apr. 2005.
- 28 CAMPOS-QUINTANA, I.; LLAMOSAS-HERNÁNDEZ, E.; MORALES-DE LA LUZ, R. Evaluación de la biocompatibilidad del cemento Portland implantado en tejido conectivo subepitelial de ratas. **Rev Assoc Dent Mex**, v.40, n.2, p.45-51, mar./abr. 2003.
- 29 CASTRO, G. **Trióxidos Minerales Agregados - CPM y EndoCPMSealer**. Buenos Aires, 2003. (Monografía) – Centro de Investigaciones Odontológicas.
- 30 CHACKO, V.; KURIKOSE, S. Human pulpal response to mineral trioxide aggregate (MTA): a histologic study. **J Clin Pediatr Dent**, v.30, n.3, p.203-9, Spring 2006.
- 31 CHNG, H.K. et al. Properties of a new root-end filling materials. **J Endod**, v.31, n.9, p.665-8, Sep. 2005.
- 32 CINTRA, L.T. et al. Evaluation of the tissue response to MTA and MBPC: Microscopic analysis of implants in alveolar bone of rats. **J Endod**, v.32, n.6, p. 556-9, June 2006.

- 33 COSTA, C.A.S.; HEBLING, J.; SOUZA, P.P.C. Testes de biocompatibilidade dos materiais odontológicos. In: ESTRELA, C. **Metodologia científica: ciência, ensino, pesquisa**. São Paulo, Artes Médicas, 2005. Cap. 12, p.231-71.
- 34 DAMMASCHKE, T. et al. Chemical and physical surface and bulk material characterization of white ProRoot MTA and two Portland cements. **Dent Mater**, v.21, n.8, p.731-8, Aug. 2005.
- 35 DEAL, B.F. et al. Chemical and physical properties of MTA, Portland cement, and a new experimental material, Fast-Set MTA. **J Endod**, v.28, n.3, p.252, Mar. 2002. /Abstract n. 70/
- 36 DE DEUS, G. et al. Cytotoxicity of MTA and Portland cement on human ECV 304 endothelial cells. **Int Endod J**, v.38, n.9, p.604-9. Sep. 2005.
- 37 DE DEUS, G. et al. MTA versus Portland cement as repair material for furcal perforations: a laboratory study using a polymicrobial leakage model. **Int Endod J**, v.39, n.4, p.293-8, Apr. 2006.
- 38 DUARTE, M.A.H. et al. Avaliação da contaminação do MTA Ângelus e do cimento Portland. **J Bras Clin Odontol Int**, v.6, n.32, p.155-7, mar./abr. 2002.
- 39 DUARTE, M.A.H. et al. pH and calcium ion release of 2 root-end filling materials. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.95, n.3, p.345-7, Mar. 2003.
- 40 DUARTE, M.A.H. et al. Arsenic release provided by MTA and Portland cement. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.99, n.5, p.648-50, May 2005.

- 41 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**, v.21, n.3, p.122-7, Mar. 1995.
- 42 ECONOMIDES, N. et al. Short-term periradicular tissue response to mineral trioxide aggregate (MTA) as root-end filling material. **Int Endod J**, v.36, n.1, p.44-8, Jan. 2003.
- 43 EIDELMAN, E. et al. Mineral trioxide aggregate vs. Formocresol in pulpotomized primary molars: a preliminary report. **Pediatr Dent**, v.23, n.1, p.15-8, Jan./Feb. 2001.
- 44 ELDENIZ, A.U. et al. Antibacterial effect of selected root-end filling materials. **J Endod**, v.32, n.4, p.345-9, Apr. 2006.
- 45 ER, K. et al. Nonsurgical endodontic treatment of dens invaginatus in a mandibular premolar with large periradicular lesion: a case report. **J Endod**, v.33, n.3, p.322-4, Mar. 2007.
- 46 ESPINDOLA, V.P. et al. Análise da qualidade do selamento em perfurações de furca: um estudo através de um modelo bacteriano. **Braz Oral Res**, v.17, p.58, Aug. 2003. Supplement 2. /Abstract n. Ib019/
- 47 ESTRELA, C. et al. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. **Braz Dent J**, v.11, n.1, p.3-9, 2000.
- 48 FARACO JUNIOR, I.M.; HOLLAND, R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. **Dent Traumatol**, v.17, n.4, p.163-6, Feb. 2001.
- 49 FARACO JUNIOR, I.M.; HOLLAND, R. Histomorphological response of dogs' dental pulp capped with white mineral trioxide aggregate. **Braz Dent J**, v.15, n.2, p.104-8, 2004.

- 50 FARSI, N. et al. Success of mineral trioxide aggregate in pulpotomized primary molars. **J Clin Pediatr Dent**, v.29, n.4, p.307-11, 2005.
- 51 FELIPPE, W.T.; FELIPPE, M.C.; ROCHA, M.J. The effect of mineral trioxide aggregate on the apexification and periapical healing of teeth with incomplete root formation. **Int Endod J**, v.39, n.1, p.2-9, Jan. 2006.
- 52 FERREIRA, M. B. et al. Análise de espectrometria de fluorescência de Raios-X e Difractometria de Raios-X dos cimentos MTA, CPM e CPM Sealer. **Braz Oral Res**, v.19, p.165, 2005. Supplement. /Abstract n. Pb065/
- 53 FERRIS, D.M.; BAUMGARTNER, J.C. Perforation repair comparing two types of mineral trioxide aggregate. **J Endod**, v.30, n.6, p.422-4, June 2004.
- 54 FIDEL, R.A.S. et al. Tempo de endurecimento de alguns cimentos endodônticos que contem hidróxido de cálcio. **ROBRAC**, v.5 ,n.16, p.15-7, Dez. 1995.
- 55 FUNTEAS, U.R.; WALLACE, J.A.; FOCHTMAN, F.W. A comparative analysis of mineral trioxide aggregate and Portland cement. **J Endod**, v.28, n.3, p.259, Mar. 2002. /Abstract n. 21/
- 56 GOBBO L.A. **Os compostos do clínquer Portland: sua caracterização por difração de raios-X e sua quantificação por refinamento de Rietveld**. São Paulo, 2003. 155p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo.
- 57 GORDUYSUS, M.O.; ETIKAN, I.; GOKOZ, A. Histopathological evaluation of the tissue reactions to Endo-Fill canal sealant and filling materials material in rats. **J Endod**, v.24, n.3, p.194-6, Mar. 1998.

- 58 GROSSMAN, L.I. Physical properties of root canal cements. **J Endod**, v.2, n.6, p.166-75, June 1976.
- 59 GUARIENTI, D.; OSINAGA, P.W.R.; FIGUEIREDO, J.A.P. Avaliação química e estrutural comparativa entre o cimento Portland e o MTA. **Braz Oral Res**, v.16, p.190, 2002. Supplement. /Abstract n. Pb167/
- 60 HAGLUND, R. et al. Effects of root-end filling materials on fibroblasts and macrophages in vitro. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** v.95, n.6, p.739-45, June 2003.
- 61 HAM, K.A. et al. Preliminary evaluation of BMP-2 expression and histological characteristics during apexification with calcium hydroxide and mineral trioxide aggregate. **J Endod** v.31, p.275-9, 2005.
- 62 HARDY, I. et al. Sealing ability of one-up bond and MTA with and without a secondary seal as furcation perforation repair materials. **J Endod**, v.30, n.9, p.658-61. Sept. 2004.
- 63 HAYASHI, M.; SHIMIZU, A.; EBISU, S. MTA for obturation of mandibular central incisors with open apices: case report. **J Endod**, v.30, n.2, p.120-2, Feb. 2004.
- 64 HOLLAND, R. et al. Estudo histológico do comportamento do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante de alguns materiais obturadores de canal radicular: influência da proporção pó-líquido. **Rev Ass Paul Cir Dent**, v.25, n.3, p.101-10, maio/jun. 1971.
- 65 HOLLAND, R. et al. Resposta do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante de alguns materiais obturadores de canal. **Rev Fac Odontol Araçatuba**, v.2, n.2, p.217-25, 1973.

- 66 HOLLAND, R. et al. Resposta tecidual à implantação de diferentes marcas de cones de guta-percha. Estudo histológico em ratos. **Rev Fac Odontol Araçatuba**, v.4, n.1, p.81-90, Jan. 1975.
- 67 HOLLAND, R. et al. Reaction of dog's teeth to root canal filling with mineral trioxide aggregate or a glass ionomer sealer. **J Endod**, v.25, n.11, p.728-30, Nov. 1999.
- 68 HOLLAND, R. et al. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. **J Endod**, v.25, n.3, p.161-65, Mar. 1999.
- 69 HOLLAND, R. et al. Agregado de trióxido mineral y cemento Portland en la obturación de conductos radiculares de perro. **Endodoncia**, v.19, n.4, p.275-80, oct./dic. 2001.
- 70 HOLLAND, R. et al. Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and pulp covering with mineral trioxide aggregate or Portland cement. **Braz Dent J**, v.12, n.2, p.109-13, 2001.
- 71 HOLLAND, R. et al. Mineral trioxide aggregate repair of lateral root perforations. **J Endod**, v.27, n.4, p.281-4, Apr. 2001.
- 72 HOLLAND, R. et al. Reaction of rat tissue to implanted dentin tube filled with mineral trioxide aggregate, Portland cement or calcium hydroxide. **Braz Dent J**, v.12, n.1, p.3-8, 2001.
- 73 HOLLAND, R. et al. Agregado de trióxido mineral (MTA): Composição, mecanismo de ação, comportamento biológico e emprego clínico. **Rev Ciênc Odontol**, v.5, n.5, p.7-21, 2002.
- 74 HOLLAND, R. et al. Calcium salts deposition in rat connective tissue after the implantation of calcium hydroxide – containing sealers. **J Endod**, v.28, n.3, p.173-6, Mar. 2002.

- 75 HOLLAND, R. et al. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with a white mineral trioxide aggregate. **Braz Dent J**, v.13, n.1, p.23-6, 2002.
- 76 HONG, C.U. et al. Healing of furcal lesions repaired by amalgam or mineral trioxide aggregate. **J Endod**, v.20, n.4, p.197, Apr. 1994. /Abstract n. 37/
- 77 HSIEN, H. et al. Repair of perforating internal resorption with mineral trioxide aggregate: a case report. **J Endod**, v.29, n.8, p.538-9, Aug. 2003.
- 78 HUNTER, H.A. The effect of gutta-percha, silver points, and Rickert's root sealer on bone healing. **J Canad Dent Ass**, v.23, n.6, p.385-8, June 1957.
- 79 INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Dental root canal sealing materials**. Geneve, 1986.
- 80 INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 7405**: dentistry – preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry – test methods for dental materials. Genève, ISO, 1997.
- 81 ISLAM, I.; CHNG, H.K.; YAP, A.U. Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and portland cement. **J Endod**, v.32, n.3, p. 193-7, Mar. 2006.
- 82 ISLAM, I.; CHNG, H.K.; YAP, A.U. X-ray diffraction analysis of mineral trioxide aggregate and Portland cement. **Int Endod J**, v.39, n.3, p. 220-5, Mar. 2006.
- 83 JARAMILLO, A.; FERNANDEZ, R.; VILLA, P. Endodontic treatment of dens invaginatus: a 5-year follow-up. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.101, n.1, p. E15-21, Jan. 2006.

-
- 84 JUÁREZ BROON, N. et al. Healing of root perforations treated with Mineral Trioxide Aggregate (MTA) and Portland cement. **J Appl Oral Sci**, v.14, n.5, p. 305-11, Oct. 2006.
- 85 JUNN, D.J. et al. Quantitative assessment of dentin bridge formation following pulp capping with mineral trioxide aggregate (MTA). **J Endod**, v.24, n.4, p.278, Apr. 1998. /Abstract n. 29/
- 86 KARABUCAK, B. et al. Vital pulp therapy with mineral trioxide aggregate. **Dent Traumatol**, v. 21, n.4, p.240-3, Aug. 2005.
- 87 KEISER, K.; JOHNSON, C.C.; TIPTON, D.A. Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. **J Endod**, v.26, n.5, p.288-91, May 2000.
- 88 KOH, E.T. et al. Mineral trioxide aggregate stimulates a biological response in human osteoblasts. **J Biomed Mat Res**, v.37, n.3, p.432-9, Dec. 1997.
- 89 KOH, E.T. et al. Cellular response to mineral trioxide aggregate. **J Endod**, v.24, n.8, p.543-7, Aug. 1998.
- 90 KOH, E.T. et al. Prophylactic treatment of dens evaginatus using mineral trioxide aggregate. **J Endod**, v.27, n.8, p.540-2, 2001.
- 91 KOLOKOURIS, I. et al. Experimental study of the biocompatibility of a new glass-ionomer root canal sealer (Ketac-Endo). **J Endod**, v.22, n.8, p.395-8, Aug. 1996.
- 92 KOLOKOURIS, I. et al. In vivo comparison of the biocompatibility of two root canal sealers implanted into the subcutaneous connective tissue of rats. **J Endod**, v.24, n.2, p.82-5, Feb. 1998.

- 93 KOULAOUZIDOU, E.A. et al. Antiproliferative effect of mineral trioxide aggregate, zinc oxide-eugenol cement, and glass-ionomer cement against three fibroblastic cell lines. **J Endod**, v.31, n.1, p.44-6, Jan. 2005.
- 94 KOWALSKI, R. et al. Estudo comparativo da resposta histológica ao implante submucoso em ratos de cimento agregado trióxido mineral (MTA) de duas marcas comerciais. **Odontol Clin Cient**, v.3, n.1, p.17-24, jan./abr. 2004.
- 95 LANGE LAND, K. et al. Methods in the study of biologic responses to endodontic materials. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.27, n.4, p.522-42, Apr. 1969.
- 96 LEE, S.J.; MONSEF, M.; TORABINEJAD, M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. **J Endod**, v.19, n.11, p.541-4, Nov. 1993.
- 97 LEONARDO, M.R. et al. A comparison of subcutaneous connective tissue responses among three different formulation of gutta-percha used in thermatic techniques. **Int Endod J**, v.23, n.4, p.211-7, 1990.
- 98 LOXLEY, E.C. et al. The effect of various intracanal oxidizing agents on the push-out strength of various perforation repair materials. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.95, n.4, p.490-4, Apr. 2003.
- 99 MAIN, C. et al. Repair of root perforations using mineral trioxide aggregate: a long-term study. **J Endod**, v.30, n.2, p.80-3, Feb. 2004.
- 100 MAKKES, P.C. et al. Polyethylene tubes as a model for the root canal. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.44, n.2, p.293-300. Aug. 1977.
- 101 MAROTO, M. et al. Treatment of a non-vital immature incisor with mineral trioxide aggregate (MTA). **Dent Traumatol**, v.19, n.3, p.165-9, June 2003.

- 102 MAROTO, M. et al. Dentin bridge formation after mineral trioxide aggregate (MTA) pulpotomies in primary teeth. **Am J Dent**, v.18, n.3, p.151-4, June 2005.
- 103 MAROTO, M. et al. Dentin bridge formation after white mineral trioxide aggregate (white MTA) pulpotomies in primary molars. **Am J Dent**, v.19, n.2, p.75-9, Apr. 2006.
- 104 MCMICHEN, F.R.S. et al. A comparative study of selected physical properties of five root-canal sealers. **Int Endod J**, v.36, n.9, p.629-35, Sep. 2003.
- 105 MENEZES, R.S. **Avaliação microscópica da resposta do complexo dentino-pulpar de dentes de cães ao agregado de trióxido mineral**. Bauru, 2003. 90p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
- 106 MENEZES, R.S. et al. Histologic evaluation of pulpotomies in dog using two types of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cement as wound dressings. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.98, n.3, p.376-9, Sept. 2004.
- 107 MENEZES, R.S. et al. Microscopic analysis of dog dental pulp after pulpotomy and pulp protection with mineral trioxide aggregate and white Portland cement. **J Appl Oral Sci**, v.12, n.2, p.104-7, June 2004.
- 108 MIN, K.S. et al. Human pulp cells response to Portland cement in vitro. **J Endod**, v.33, n.2, p.163-6, Feb. 2007.
- 109 MIÑANA GOMEZ, M. El Agregado de Trióxido Mineral (MTA) en Endodoncia. **RCOE**, v.7, n.3, p.283-9, mayo/jun. 2002.
- 110 MIYAGAK, D.C. et al. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of endodontic sealers. **Bras Oral Res**, v.20, n.4, p.303-6, Oct. 2006.

- 111 MOLLOY, D. et al. Comparative tissue tolerance of a new endodontic sealer. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.73, n.4, p.490-3, Apr. 1992.
- 112 MORAES, F.G. **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. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
- 113 MORAES, S.H.; ARAGÃO, E.M.; HECK, A.R. Reação do tecido conjuntivo subcutâneo de rato ao implante do cimento Portland. **J Bras Endod**, v.2, n.7, p.326-9, out./dez. 2001.
- 114 MORAIS, C.A. et al. Evaluation of tissue response to MTA and Portland cement with iodoform. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.102, n.3, p.417-21, Sep. 2006.
- 115 MORETTON, T.R. et al. Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of mineral trioxide aggregate and ethoxybenzoic acid cement. **J Biom Mat Res**, v.52, n.3, p.528-33, Oct./Dec. 2000.
- 116 MOTTA, A.G. et al. Reação do tecido conjuntivo subcutâneo de rato ao MTA e ao hidróxido de cálcio. **Rev Bras Odontol**, v.60, n.4, p.274-6, jul./ago. 2003.
- 117 NAKATA, T.T.; BAE, K.S.; BAUMGARTNER, J.C. Perforation repair comparing mineral trioxide aggregate and amalgam using an anaerobic bacterial leakage model. **J Endod**, v.24, n.3, p.184-6, Mar. 1998.
- 118 NOETZEL, J. et al. Tissue responses to an experimental calcium phosphate cement and mineral trioxide aggregate as materials for furcation perforation repair: a histological study in dogs. **Clin Oral Investig**, v.10, n.1, p.77-83, Mar. 2006.

- 119 OLSSON, B.; SLIWKOWSKI, A.; LANGELAND, K. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. **J Endod**, v.7, n.8, p.355-69, Aug. 1981.
- 120 PARIROKH, M. et al. A comparative study of white and grey mineral trioxide aggregate as pulp capping agents in dog's teeth. **Dent Traumatol**, v.21, n.3, p.150-4, June 2005.
- 121 PEREIRA, E.M. et al. Capacidade de vedamento de diversos materiais em perfurações radiculares. **Rev Bras Odontol**, v.60, n.5, p.349-52, set./out. 2003.
- 122 PÉRES, A.L. et al. Osteoblasts and MG-63 osteosarcoma cells behave differently when in contact with ProRoot™ MTA and White MTA. **Int Endod J**, v.36, n.8, p.564-70, Aug. 2003.
- 123 PHILLIPS, J.M. Rat connective tissue response to hollow polyethylene tube implants. **J Canad Dent Ass**, v.33, n.2, p.59-64, 1967.
- 124 PITT FORD, T.R. et al. Use de mineral trioxide aggregate for repair of furcal perforations. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.79, n.6, p.756-63, June 1995.
- 125 PITT FORD, T.R. et al. Using Mineral Trioxide Aggregate as a pulp capping material. **J Am Dent Assoc**, v.127, n.10, p.1491-4, Oct. 1996.
- 126 REGAN, J.D.; GUTMANN, J.L.; WITHERSPOON, D.E. Comparision of Diaket and MTA when used as root-end filling materials to support regeneration of the periradicular tissues. **Int Endod J**, v.35, n.10, p.840-7, Oct. 2002.

- 127 REZENDE, T.M. et al. Effect of mineral trioxide aggregate on cytokine production by peritoneal macrophages. **Int Endod J**, v.38, n.12, p.896-903. Dec. 2005.
- 128 RIBEIRO, C.S. et al. Comparative evaluation of antimicrobial action of MTA, calcium hydroxide and Portland cement. **J Appl Oral Sci**, v.14, n.5, p.330-3, Oct. 2006.
- 129 RIBEIRO, D.A. et al. Biocompatibility in vitro tests of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements. **J Endod**, v.31, n.8, p.605-7, Aug. 2005.
- 130 RIBEIRO, D.A. et al. Genotoxicity and cytotoxicity of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements on Chinese hamster ovary (CHO) cells in vitro. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.101, n.2, p.258-61, Feb. 2006.
- 131 SAFAVI, K.; NICHOLS, F.C. Secretion of PGE₂ from monocytes exposed to MTA or Portland cement. **J Endod**, v.26, n.9, p.540, Sept. 2000. /Abstract n. 18/
- 132 SAIDON, J. et al. Tissue reaction to implanted mineral trioxide aggregate or Portland cement. **J Endod**, v.28, n.3, p.247, Mar. 2002. /Abstract n. 52/
- 133 SAIDON, J. et al. Cell and tissue reactions to mineral trioxide aggregate and Portland cement. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.95, n.4, p.483-9, Apr. 2003.
- 134 SANTOS, A.D. et al. Physico-chemical properties of MTA and a novel experimental cement. **Int Endod J**, v.38, n.7, p.443-7, Jul. 2005.
- 135 SARI, S.; SONMEZ, D. Internal resorption treated with mineral trioxide aggregate in a primary molar tooth: 18-month follow-up. **J Endod**, v.32, n.1, p.69-71, Jan. 2006.

- 136 SATHORN, C.; PARASHOS, P. Contemporary treatment of class II dens invaginatus. **Int Endod J**, v.40, n.4, p.308-16, Apr. 2007.
- 137 SCHWARTZ, R.S. et al. Mineral trioxide aggregate: a new material for endodontics. **J Am Dent Assoc**, v.130, n.7, p.967-75, July 1999.
- 138 SHABAHANG, S. et al. A comparative Study of root-end induction using osteogenic protein-1, calcium hydroxide, and mineral trioxide aggregate in dogs. **J Endod**, v.25, n.1, p.1-5, Jan. 1999.
- 139 SHAHI, S. et al. A comparative study of the biocompatibility of three root-end filling materials in rat connective tissue. **J Endod**, v.32, n.8, p.776-80, Aug. 2006.
- 140 SHIN, S. et al. Biocompatibility and mitogenic effect of several root-end filling materials in osteoblast and odontoblast cultures. **J Endod**, v.29, n.4, p.306, Apr. 2003. /Abstract n. 29/
- 141 SILVEIRA, J.X.; LAGE-MARQUES, J.L. Avaliação in vitro da capacidade de selamento marginal apical de novos cimentos endodônticos. **Braz Oral Res**, v.20, p.125, 2006. Supplement. /Abstract n. Pb054/
- 142 SIMON, S. et al. The use of mineral trioxide aggregate in one-visit apexification treatment: a prospective study. **Int Endod J**, v.40, n.3, p.186-97, Mar. 2007.
- 143 SIPERT, C.R. et al. In vitro antimicrobial activity of Fill Canal, Sealapex, Mineral Trioxide Aggregate, Portland cement and EndoRez. **Int Endod J**, v.38, n.8, p.539-43, Aug. 2005.
- 144 SLUYK, S.R.; MOON, P.C.; HARTWELL, G.R. Evaluation of setting properties and retention characteristics of mineral trioxide aggregate when

used as a furcation perforation repair material. **J Endod**, v.24, n.11, p.768-71, Nov. 1998.

- 145 SONG, J.S. et al. Chemical analysis of powder and set forms of Portland cement, gray ProRoot MTA, white ProRoot MTA, and gray MTA-Angelus. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.102, n.6, p.809-15, Dec. 2006.
- 146 SOUSA, C.J. et al. A comparative histological evaluation of the biocompatibility of materials used in apical surgery. **Int Endod J**, v.37, n.11, p.738-48, Nov. 2004.
- 147 SPANGBERG, L.; LANGE LAND, K. Biologic effects of dental materials: 1. Toxicity of root canal filling materials on HeLa cells in vitro. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.35, n.3, p.402-14, 1973.
- 148 STANFORD, J.W. Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. **Int Endod J**, v.30, n.2, p.140-88, June 1980.
- 149 SUBRAMANIAN, K. et al. Can ProRoot® become more microbe "unfriendly". **J Endod**, v.29, n.4, p.306, Apr. 2003. /Abstract n. 31/
- 150 SUMER, M. et al. Reactions of connective tissue to amalgam, intermediate restorative material, mineral trioxide aggregate, and mineral trioxide aggregate mixed with chlorhexidine. **J Endod**, v.32, n.11, p.1094-6, Nov. 2006.
- 151 TANOMARU FILHO, M. et al. In vitro antimicrobial activity of endodontic sealers, MTA-based cements and Portland cement. **J Oral Sci**, v. 49, n.1, p.41-5, Mar. 2007.
- 152 TITTLE, K. et al. Apical closure induction using bone growth factors and mineral trioxide aggregate. **J Endod**, v.22, n.4, p.198, 1996. /Abstract/

- 153 TORABINEJAD, M.; CHIVIAN, N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. **J Endod**, v.25, n.3, p.197-205, Mar. 1999.
- 154 TORABINEJAD, M.; PITT FORD, T.R. Root end filling materials: a review. **J Endod**, v.12, n.4, p.161-78, Aug. 1996.
- 155 TORABINEJAD, M.; WATSON, T.F.; PITT FORD, T.R. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. **J Endod**, v.19, n.12, p.591-5, Dec. 1993.
- 156 TORABINEJAD, M. et al. Dye leakage of four root end filling materials: effects of blood contamination. **J Endod**, v.20, n.4, p.159-63, Apr. 1994.
- 157 TORABINEJAD, M. et al. Bacterial leakage of a mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. **J Endod**, v.21, n.3, p.109-12, Mar. 1995.
- 158 TORABINEJAD, M. et al. Citotoxicity of four root end filling materials. **J Endod**, v.21, n.10, p.489-92, Oct. 1995.
- 159 TORABINEJAD, M. et al. Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. **J Endod**, v.21, n.6, p.295-9, June 1995.
- 160 TORABINEJAD, M. et al. Investigation of mineral trioxide aggregate for root-end filling in dogs. **J Endod**, v.21, n.12, p.603-8, Dec. 1995.
- 161 TORABINEJAD, M. et al. Physical and chemical properties of a new rootend filling material. **J Endod**, v.21, n.7, p.349-53, July 1995.
- 162 TORABINEJAD, M. et al. Tissue reaction to implanted Super-EBA and mineral trioxide aggregate in the mandible of guinea pigs: a preliminary report. **J Endod**, v.21, n.11, p.569-71, Nov. 1995.

- 163 TORABINEJAD, M. et al. Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root-end filling in monkeys. **J Endod**, v.23, n.4, p.225-8, Apr. 1997.
- 164 TORABINEJAD, M. et al. Tissue reaction to implanted root-end filling materials in the tibia and mandible of guinea pigs. **J Endod**, v.24, n.7, p.468-71, July 1998.
- 165 TORNECK, C.D. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.21, n.3, p.379-87, Mar. 1966.
- 166 TORNECK, C.D. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.24, n.5, p.674-83, Nov. 1967.
- 167 TRINDADE, A.C.; OLIVEIRA, E.P.M. de.; FIGUEIREDO, J.A.P. de. Análise comparativa da resposta tecidual ao agregado trióxido mineral (MTA) e ao cimento Portland, isolado e acrescido de substância radiopacizante. **J Bras Endod**, v.4, n.15, p.309-14, out./dez. 2003.
- 168 TZIAFAS, D. et al. The dentinogenic effect of mineral trioxide aggregate (MTA) in short-term capping experiments. **Int Endod J**, v.35, n.3, p.245-54, Mar. 2002.
- 169 VASCONCELOS, B.C. **Avaliação de algumas propriedades físico-químicas de cimentos retro-obturadores à base de agregado de trióxido mineral e de um cimento epóxico experimental**. Bauru, 2006. 138p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
- 170 VIZGIRDA, P.J. et al. A comparison of laterally condensed gutta-percha, thermoplasticized gutta-percha and mineral trioxide aggregate as root

canal filling materials. **J Endod**, v.28, n.3, p.246, Mar. 2002. /Abstract n. OR46/

- 171 WEIBEL, E.R. Stereological principles of morphometry in electron microscopic cytology. **Int Rev Cytol**, v.26, p.235-302, 1969.
- 172 WELDON, J.K. et al. Sealing ability of mineral trioxide aggregate and Super-EBA when used as furcation repair materials: a longitudinal study. **J Endod**, v.28, n.6, p.467-70, June 2002.
- 173 WOLFSON, E.M.; SELTZER, S. Reaction of rat connective tissue to some gutta-percha formulations. **J Endod**, v.1, n.12, p.395-402, Dec. 1975.
- 174 WUCHERPFENNIG, A.L.; GREEN, D.B. Mineral trioxide vs. Portland cement: two biocompatible filling materials. **J Endod**, v.25, n.4, p.308, April 1999. /Abstract n. 40/
- 175 YALTIRIK, M. et al. Reaction of connective tissue to mineral trioxide aggregate and amalgam. **J Endod**, v.30, n.2, p.95-9, Feb. 2004.
- 176 YILDIRIM, T. et al. Histologic study of furcation perforations treated with MTA or Super EBA in dogs' teeth. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.100, n.1, p.120-4, July 2005.
- 177 ZANETTINI, I.; ZANENTTINI, P.R. Uso do agregado de trióxido mineral (MTA) como material retrobturador em cirurgias periapicais. **J Bras Endod**, v.5, n.19, p.289-94, nov./dez. 2004 / jan./fev. 2005.
- 178 ZANONI, E.M.S. et al. Espaços vazios nas obturações endodônticas. **RGO**, v.36, n.3, p.232-9, maio/jun. 1988.
- 179 ZHU, Q. et al. Adhesion of human osteoblasts on root-end filling materials. **J Endod**, v.26, n.7, p.404-6, July 2000.

- 180 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 the rat. **Endod Dent Traumatol**, v.6, n.2, p.66-72, Apr. 1990.

APÊNDICE

APÊNDICE A

Endo-CPM-Sealer - 15 dias: Valores da densidade de volume (%) por animal

Rato	Fibras	Fibroblastos	Cél. Inflam.	Vasos	Outros
1	56,54	17,81	6,05	2,12	17,48
2	55,76	11,44	6,86	5,73	20,21
3	59,87	20,11	5,65	3,10	11,27
4	66,46	22,09	0,00	2,78	8,67
5	57,18	26,11	10,38	1,95	4,38
6	67,03	18,19	2,09	3,34	9,35
7	59,87	20,11	5,65	3,10	11,27
8	56,27	24,55	8,96	2,68	7,54

APÊNDICE B

Endo-CPM-Sealer - 30 dias: Valores da densidade de volume (%) por animal

Rato	Fibras	Fibroblastos	Cél. Inflam.	Vasos	Outros
1	57,18	22,63	3,04	4,83	12,32
2	60,35	29,71	3,14	0,68	6,12
3	62,37	19,09	3,13	3,33	12,08
4	66,72	22,35	0,64	0,81	9,48
5	69,27	19,45	0,17	3,99	7,12
6	58,45	21,50	5,44	6,54	8,07
7	62,38	22,46	2,60	3,36	9,20
8	62,38	22,46	2,60	3,36	9,20

APÊNDICE C

Endo-CPM-Sealer - 60 dias: Valores da densidade de volume (%) por animal

Rato	Fibras	Fibroblastos	Cél. Inflam.	Vasos	Outros
1	59,94	26,36	2,78	1,18	9,74
2	59,94	26,36	2,78	1,18	9,74
3	54,09	22,65	9,10	2,99	11,17
4	60,83	27,05	4,00	0,19	7,93
5	63,67	24,96	0,00	2,38	8,99
6	63,53	28,68	1,67	0,38	5,74
7	61,13	27,58	0,85	0,38	10,06
8	56,42	27,23	1,07	0,75	14,53

APÊNDICE D**Clínquer Puro - 15 dias:** Valores da densidade de volume (%) por animal

Rato	Fibras	Fibroblastos	Cél. Inflam.	Vasos	Outros
1	65,04	21,77	2,12	2,61	8,46
2	63,32	24,63	1,47	2,92	7,66
3	62,61	24,54	1,15	6,43	5,27
4	65,16	23,17	1,14	6,16	4,37
5	58,28	26,83	1,81	3,64	9,44
6	63,54	22,23	2,14	5,08	7,01
7	70,44	20,03	1,99	2,56	4,98
8	63,13	25,10	2,92	1,77	7,08

APÊNDICE E**Clínquer Puro - 30 dias:** Valores da densidade de volume (%) por animal

Rato	Fibras	Fibroblastos	Cél. Inflam.	Vasos	Outros
1	69,47	21,50	1,53	0,67	6,83
2	63,43	24,96	0,87	2,25	8,49
3	69,53	21,67	0,81	0,56	7,43
4	62,56	27,83	0,18	0,67	8,76
5	67,82	24,92	2,56	0,76	3,94
6	65,98	21,91	2,07	4,02	6,02
7	65,02	29,16	1,23	0,84	3,75
8	62,27	21,35	3,40	2,14	10,84

APÊNDICE F**Clínquer Puro - 60 dias:** Valores da densidade de volume (%) por animal

Rato	Fibras	Fibroblastos	Cél. Inflam.	Vasos	Outros
1	71,02	23,13	0,73	2,18	2,94
2	70,60	22,95	0,33	2,48	3,64
3	72,69	22,77	1,08	1,50	1,96
4	69,91	24,85	0,92	0,74	3,58
5	65,78	25,22	1,69	0,86	6,45
6	69,84	25,86	0,21	2,18	1,91
7	64,14	27,17	2,75	1,53	4,41
8	68,16	21,85	1,28	3,45	5,26

APÊNDICE G

Clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio - 15 dias: Valores da densidade de volume (%) por animal

Rato	Fibras	Fibroblastos	Cél. Inflam.	Vasos	Outros
1	67,27	19,42	2,54	1,03	9,74
2	67,53	25,04	0,91	1,58	4,94
3	64,02	20,72	3,25	2,29	9,72
4	63,42	23,62	0,51	6,24	6,21
5	64,62	24,13	2,40	1,84	7,01
6	64,67	25,00	0,91	0,73	8,69
7	64,49	29,48	4,75	0,89	0,39
8	66,23	23,51	5,53	1,96	2,77

APÊNDICE H

Clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio - 30 dias: Valores da densidade de volume (%) por animal

Rato	Fibras	Fibroblastos	Cél. Inflam.	Vasos	Outros
1	67,50	26,33	1,91	3,07	1,19
2	67,18	27,95	3,05	0,36	1,46
3	77,44	16,80	0,00	2,40	3,36
4	63,26	28,68	0,00	2,55	5,51
5	64,16	30,88	1,76	1,12	2,08
6	66,03	25,95	4,12	2,76	1,14
7	66,18	22,13	4,26	6,62	0,81
8	63,58	31,39	4,71	0,32	0,00

APÊNDICE I

Clínquer acrescido com 2% de sulfato de cálcio - 60 dias: Valores da densidade de volume (%) por animal

Rato	Fibras	Fibroblastos	Cél. Inflam.	Vasos	Outros
1	63,17	30,45	2,92	1,32	2,14
2	58,70	24,80	3,87	0,51	12,12
3	64,13	26,99	0,36	0,73	7,79
4	63,56	27,08	2,33	1,45	5,58
5	61,03	28,12	0,55	1,47	8,83
6	65,09	27,73	3,23	1,72	2,23
7	65,90	27,48	3,04	1,53	2,05
8	66,85	24,00	2,39	2,87	3,89

APÊNDICE J

Clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio - 15 dias: Valores da densidade de volume (%) por animal

Rato	Fibras	Fibroblastos	Cél. Inflam.	Vasos	Outros
1	69,43	22,22	5,48	0,89	1,98
2	73,25	22,71	1,20	0,76	2,08
3	68,22	25,90	2,44	1,63	1,81
4	69,11	22,61	0,98	0,97	6,33
5	66,75	20,00	5,31	2,81	5,13
6	71,33	21,44	5,39	0,17	1,67
7	69,46	22,40	3,30	1,55	3,29
8	68,19	21,91	2,28	3,62	4,00

APÊNDICE K

Clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio - 30 dias: Valores da densidade de volume (%) por animal

Rato	Fibras	Fibroblastos	Cél. Inflam.	Vasos	Outros
1	69,12	17,61	2,13	4,82	6,32
2	65,10	24,24	2,14	0,80	7,72
3	64,93	26,12	2,75	3,86	2,34
4	66,29	21,47	4,58	3,26	4,40
5	73,90	20,71	1,15	1,64	2,60
6	59,28	20,66	11,14	4,29	4,63
7	62,89	22,32	4,98	6,13	3,68
8	68,82	18,59	7,78	1,28	3,53

APÊNDICE L

Clínquer acrescido com 5% de sulfato de cálcio - 60 dias: Valores da densidade de volume (%) por animal

Rato	Fibras	Fibroblastos	Cél. Inflam.	Vasos	Outros
1	70,92	26,65	0,34	0,34	1,75
2	67,80	24,34	4,01	2,10	1,75
3	71,03	22,63	0,68	1,72	3,94
4	69,22	27,32	1,25	0,17	2,04
5	68,48	24,33	0,36	0,36	6,47
6	66,69	23,77	4,79	1,02	3,73
7	66,15	24,97	2,82	1,87	4,19
8	63,09	29,47	4,03	0,85	2,56

APÊNDICE M

Controle (gota-percha) - 15 dias: Valores da densidade de volume (%) por animal

Rato	Fibras	Fibroblastos	Cél. Inflam.	Vasos	Outros
1a	61,73	26,17	0,00	3,21	8,89
1b	62,07	20,66	3,11	5,13	9,03
1c	60,51	26,11	4,56	5,62	3,2
1d	50,67	30,88	0,94	7,72	9,79
2a	60,03	25,93	0,97	3,71	9,36
2b	62,18	26,71	0,00	2,14	8,97
2c	66,02	24,64	1,46	4,14	3,74
2d	67,27	20,54	2,14	6,36	3,69
3a	52,32	31,20	0,16	1,76	14,56
3b	55,07	29,17	0,72	2,26	12,78
3c	59,19	25,20	3,33	8,89	3,39
3d	63,03	28,03	1,42	3,76	3,76
4a	59,85	24,07	1,79	4,17	10,12
4b	53,96	27,14	1,99	6,76	10,15
4c	55,46	25,64	0,21	6,93	11,76
4d	61,34	24,14	3,87	2,56	8,09
5a	54,13	28,96	2,88	4,86	9,17
5b	52,86	22,71	7,70	3,09	13,64
5c	57,54	25,03	1,85	5,95	9,63
5d	64,64	24,52	0,92	3,49	6,43
6a	53,87	22,26	1,79	3,59	18,49
6b	53,25	26,58	2,45	6,34	11,38
6c	62,60	26,05	1,40	3,14	6,81
6d	63,19	26,11	2,60	3,16	4,94
7a	54,55	22,33	3,62	5,01	14,49
7b	55,45	24,00	3,94	6,03	10,58
7c	57,86	29,23	2,56	3,62	6,73
7d	62,80	27,12	5,77	1,55	2,76
8a	53,78	21,22	0,84	4,35	19,81
8b	54,87	25,62	3,89	2,9	12,72
8c	64,26	24,07	2,35	3,36	5,96
8d	54,65	25,92	1,44	4,22	13,77

APÊNDICE N

Controle (gota-percha) - 30 dias: Valores da densidade de volume (%) por animal

Rato	Fibras	Fibroblastos	Cél. Inflam.	Vasos	Outros
1a	Perdido	Perdido	Perdido	Perdido	Perdido
1b	64,66	21,04	1,30	6,49	6,51
1c	65,86	24,85	0,61	0,8	7,88
1d	72,12	18,03	1,96	1,62	6,27
2a	61,03	22,09	2,85	5,35	8,68
2b	62,00	30,13	0,77	2,11	4,99
2c	67,05	25,34	2,78	2,22	2,61
2d	62,16	30,73	0,00	3,67	3,44
3a	63,44	20,94	1,72	6,86	7,04
3b	64,60	21,71	0,00	3,51	10,18
3c	70,75	25,45	1,04	1,58	1,18
3d	63,58	23,21	0,37	4,53	8,31
4a	56,04	23,04	2,47	2,33	16,12
4b	62,14	19,04	0,57	6,99	11,26
4c	60,94	24,67	0,00	8,9	5,49
4d	73,97	20,06	2,29	2,34	1,34
5a	65,35	18,29	1,31	5,44	9,61
5b	68,44	20,08	2,06	7,75	1,67
5c	73,26	13,39	1,28	5,76	6,31
5d	73,02	19,02	1,60	1,89	4,47
6a	61,62	20,92	0,76	4,99	11,71
6b	61,78	24,52	1,77	7,42	4,51
6c	70,18	17,23	0,61	8,73	3,25
6d	63,16	22,01	3,50	2,3	9,03
7a	58,18	19,46	1,81	0,73	19,82
7b	58,02	29,33	1,36	3,57	7,72
7c	69,08	16,56	1,41	5,29	7,66
7d	75,43	21,12	0,57	0,96	1,92
8a	69,76	18,09	1,58	3,05	7,52
8b	60,22	21,89	0,54	8,21	9,14
8c	70,65	22,32	1,60	3,49	1,94
8d	67,04	24,19	1,78	2,51	4,48

APÊNDICE O

Controle (gota-percha) - 60 dias: Valores da densidade de volume (%) por animal

Rato	Fibras	Fibroblastos	Cél. Inflam.	Vasos	Outros
1a	Perdido	Perdido	Perdido	Perdido	Perdido
1b	Perdido	Perdido	Perdido	Perdido	Perdido
1c	Perdido	Perdido	Perdido	Perdido	Perdido
1d	72,12	22,05	1,06	2,65	2,12
2a	Perdido	Perdido	Perdido	Perdido	Perdido
2b	58,19	27,77	0,16	4,79	9,09
2c	69,49	21,46	0,67	3,64	4,74
2d	64,61	18,19	2,71	3,04	11,45
3a	61,01	15,36	3,07	2,44	18,12
3b	59,06	24,02	1,03	5,58	10,31
3c	57,11	32,25	0,86	3,43	6,35
3d	64,98	24,37	0,00	1,44	9,21
4a	66,03	16,19	2,27	0,84	14,67
4b	63,43	20,00	3,49	7,12	5,96
4c	67,90	22,30	1,24	4,37	4,19
4d	67,15	18,38	0,21	0,42	13,84
5a	66,01	19,99	0,00	6,26	7,74
5b	70,11	20,22	0,00	0,44	9,23
5c	70,52	22,16	0,18	1,83	5,31
5d	67,02	24,64	0,00	3,96	4,38
6a	64,67	19,56	0,53	0,7	14,54
6b	60,36	28,69	0,00	0,33	10,62
6c	Perdido	Perdido	Perdido	Perdido	Perdido
6d	67,58	21,16	0,96	3,3	7
7a	67,06	24,61	1,11	1,06	6,16
7b	58,29	32,14	1,21	1,67	6,69
7c	66,83	20,18	2,35	1,72	8,92
7d	66,68	28,00	1,44	3	0,88
8a	56,33	21,31	0,82	1,31	20,23
8b	61,42	26,24	0,00	4,28	8,06
8c	60,74	26,15	1,10	2,47	9,54
8d	59,92	32,30	0,58	2,92	4,28

ANEXO

ANEXO A

**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 02/2006

Bauru, 05 de abril de 2006.

Senhor Professor,

Informamos que após nova análise do projeto de pesquisa **“Avaliação microscópica da resposta tecidual no tecido subcutâneo de ratos à implantação do Endo-C.P.M.-Sealer e do Clínquer do cimento Portland puro e acrescentado com sulfato de cálcio ao 2% e 5%”**, de autoria do aluno Ramiro Marcelo Ortiz Oropeza, a ser desenvolvido sob sua orientação, esta Comissão considerou o projeto **APROVADO**, “*ad referendum*” na data de 03 de abril de 2006.

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

Atenciosamente,

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

Ilmº Sr. **Prof. Dr. Clovis Monteiro Bramante**

DD. Docente do Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários