FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

MARINA ANGÉLICA MARCIANO DA SILVA

Avaliação da reação tecidual e da radiopacidade do cimento Portland acrescido de diferentes concentrações de óxido de bismuto. Estudo em tecido subcutâneo de ratos

BAURU
2011

MARINA ANGÉLICA MARCIANO DA SILVA

Avaliação da reação tecidual e da radiopacidade do cimento Portland acrescido de diferentes concentrações de óxido de bismuto. Estudo em tecido subcutâneo de ratos

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

Área de concentração: Endodontia

Orientador: Prof. Dr. Roberto Brandão Garcia

Versão corrigida

BAURU
2011

S38a

Silva, Marina Angélica Marciano

Avaliação da reação tecidual e da radiopacidade do cimento Portland acrescido de diferentes concentrações de óxido de bismuto. Estudo em tecido subcutâneo de ratos./ Marina Angélica Marciano da Silva. – Bauru, 2011.

119p. : il. ; 30 cm.

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

Orientador: Prof. Dr. Roberto Brandão Garcia

Nota: A versão original desta dissertação/tese encontra-se disponível no Serviço de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Bauru - FOB/USP.

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

Assinatura:

Data:

Comitê de Ética da FOB-USP
Protocolo nº: 006/2009
Data: 14/07/2009

FOLHA DE APROVAÇÃO

DEDICATÓRIA

*À **Deus** por seu infinito amor, pela tranqüilidade, pela força nos momentos de fraqueza, amizades conquistadas e pela certeza de que tudo valeu a pena.*

*Dedico este trabalho aos meus queridos pais **José Marciano da Silva** e **Rosali Aparecida Mussato da Silva**, sem o apoio deles jamais teria chegado até aqui. Obrigada por tudo, pela educação, exemplo e dedicação. Seus ensinamentos sempre farão parte da minha vida.*

"Os nossos pais amam-nos porque somos seus filhos, é um fato inalterável. Nos momentos de sucesso, isso pode parecer irrelevante, mas nas ocasiões de fracasso, oferecem um consolo e uma segurança que não se encontram em qualquer outro lugar."

(Bertrand Russell)

*Dedico também ao meu querido irmão **Carlos Henrique Marciano da Silva** e cunhada **Michelle de Godoy** que sempre me incentivaram, torceram e apoiaram. Vocês são um exemplo na minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Em especial ao meu orientador, ***Prof. Dr. Roberto Brandão Garcia*** *por toda a dedicação. Foi muito especial tê-lo como orientador e mais especial ainda por saber que fui uma de suas últimas orientadas.*

Aos queridos professores da disciplina de Endodontia por todo apoio durante a Graduação e Mestrado. Levarei sempre comigo todos os ensinamentos. Obrigada pela oportunidade da convivência com pessoas tão expressivas e de sucesso.

Prof. Dr. Clovis Monteiro Bramante, Profª Drª Flaviana Bombarda de Andrade, Prof. Dr. Ivaldo Gomes de Moraes, Prof. Dr. Marco Antonio Hungaro Duarte *e* ***Prof. Dr. Norberti Bernardineli.***

Aos queridos amigos do mestrado, obrigada pela convivência e bons momentos compartilhados durante todo o Mestrado, levo de cada um muitas boas lembranças e ensinamentos para a vida toda.

Aldo del Carpio Perochena, Bruno Cavalini Cavenago, Clarissa Teles Rodrigues, Elaine Cristina Consolmagno, Marcelo Haas Villas-Boas, Paloma Gagliardi Minotti, Raquel Zanin Midena, Ronald Ordinola-Zapata *e* ***Thais Vieira Rizzo Nunes da Cunha.***

Aos funcionários da disciplina de Endodontia: ***Edimauro de Andrade, Neide Leandro e Suely Regina Bettio****, muito obrigada pela grande ajuda durante todo o Mestrado.*

Aos docentes e funcionários da disciplina de Histologia pela ajuda durante a execução do trabalho de Dissertação, ***Prof. Dr. Gerson Francisco de Assis, Daniele Santi Ceolin, Patrícia de Sá Mortagua Germino*** *e* ***Tânia Mary Cestari.***

À ***Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior*** *pela concessão de bolsa de estudo para a realização do trabalho.*

À Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, na pessoa do diretor, ***Prof. Dr. José Carlos Pereira****.*

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

"Grandes realizações não são feitas por impulso, mas por uma soma de pequenas realizações".

(Vincent Van Gogh)

RESUMO

A radiopacidade e a resposta tecidual do cimento Portland (CP) acrescido de óxido de bismuto (OB) nas concentrações de 0, 15, 20, 30 e 50%, determinadas em peso, foram avaliadas. Para a análise da radiopacidade, foi seguida a norma ISO 6876/2001. A densidade radiográfica foi mensurada em milímetros de alumínio (mmAl) e a análise estatística realizada utilizando-se os testes de ANOVA e Tukey-Kramer ($p<0,05$). Para a análise da resposta tecidual foram selecionados 81 ratos albinos e cada um recebeu como implante, na região dorsal, dois tubos de polietileno preenchidos com os cimentos experimentais. Os ratos foram mortos após 15, 30 e 60 dias. Na análise microscópica foram avaliados dois parâmetros: células inflamatórias e fenômeno reparatório. Os escores foram determinados e submetidos à análise estatística, utilizando-se os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e Dunn ($p<0,05$). Os resultados demonstraram que os valores representativos da radiopacidade aumentaram, gradativamente, de acordo com a concentração de óxido de bismuto. A significância estatística foi verificada entre o CP/50%OB e os demais cimentos avaliados, e entre o CP puro e o CP/30%OB ($p<0,05$). A radiopacidade apresentada pelo CP puro foi abaixo do mínimo (3 mmAl) recomendado pelas normas nº 57 da ADA e da ISO 6876/2001. Na análise da resposta tecidual, em relação à intensidade do infiltrado inflamatório, ocorreu diminuição de 15 para 30 dias e de 15 para 60 dias, com significância estatística ($p<0,05$), apenas para o grupo II nos dois intervalos de tempos. Com referência ao fenômeno reparatório ocorreu, em geral, para todos os grupos aumento do tecido fibrocelular, do período de 15 para o de 60 dias. Os resultados obtidos permitiram concluir que 15 a 20% de óxido de bismuto é suficiente para proporcionar ao CP a radiopacidade mínima recomendada pelas normas ADA e ISO. A diminuição do infiltrado inflamatório associada ao aumento do tecido fibrocelular, fundamentam a ausência de citotoxicidade do óxido de bismuto incorporado ao CP.

Palavras-chave: Obturação retrógrada. Inflamação. Endodontia.

ABSTRACT

Radiopacity and rat subcutaneous tissue response to Portland cement containing different concentrations of bismuth oxide

The aim of the study was to evaluate the radiopacity and subcutaneous tissue response of Portland cement (PC) with different concentrations of bismuth oxide (BO). PC was mixed with 0, 15, 20, 30 and 50% of BO determined in weight. The radiopacity was performed according to the ISO 6876/2001 standard for dental root canal sealing materials Statistical analysis was performed using ANOVA and Tukey-Kramer tests ($p<0.05$). For biocompatibility test, eighty-one albino rats (*Rattus norvegicus*) were selected. Two subcutaneous pockets were created in animal dorsum and polyethylene tubes filled with the cements were implanted. The rats were sacrificed at 15, 30 and 60 days after implantation. Histological evaluations were classified according to inflammatory response and repair process and scores were established. Statistical analysis was performed using the Kruskal-Wallis and Dunn tests ($p<0.05$). The results showed that there were statistical differences in radiopacity among PC with 50% of BO and all the other evaluated concentrations ($p<0.05$). Also, there was statistical difference between PC with 30% of BO and PC without BO ($p<0.05$). No statistical differences were found for inflammatory response in all the evaluated groups in each period ($p>0.05$). For repair process evaluation was observed a significant increase in fiber cellular tissue through the periods for all the groups ($p<0.05$). The tests suggested that 15 to 20% of BO added to PC attended ISO requirements for radiopacity. For biological response, there were decreases in the inflammatory response associated with an increase in the repair process, suggesting the lack of toxicity of BO added to PC.

Key words: Mineral trioxide aggregate. Bismuth oxide. Portland cement.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURAS

Figura 1 - Anéis metálicos utilizados no teste de radiopacidade..... 52

Figura 2 - (A) Corpos de prova dispostos de maneira aleatória sobre filme oclusal, juntamente com a escala de alumínio. (B) Imagem radiográfica..... 52

Figura 3 - Escala de alumínio..... 52

Figura 4 - (A) Cimento espatulado durante o procedimento cirúrgico. (B) Tubo de polietileno preenchido com o cimento recém-espatulado..... 56

Figura 5 - (A) Tricotomia da região dorsal. (B) Anti-sepsia com álcool iodado a 1%. (C, D) Incisão longitudinal na região mediana com lâmina de bisturi nº 15. (E) Inserção do tubo de polietileno na região dorsal do rato com auxílio de trocarte. (F) Esquema da localização dos tubos na região dorsal do animal..... 56

Figura 6 – Remoção do tecido contendo os tubos implantados..... 59

Figura 7 – Tecido neoformado envolvendo o tubo implantado. Destaque das extremidades analisadas..... 59

Figura 8 – Cortes histológicos representativos dos grupos no período de 15 dias. (A) Grupo I (0%). Proliferação fibroangioblástica e células macrofágicas (*seta preta*), (B) Grupo II (15%). Infiltrado inflamatório crônico macrofágico: macrófagos (*seta preta*) e células gigantes (*seta vermelha*), (C) Grupo III (20%). Infiltrado inflamatório crônico macrofágico: macrófagos (*seta preta*) e células gigantes multinucleadas (*seta vermelha*). Tecido fibrocelular (*asterisco*), (D) Grupo IV (30%). Infiltrado inflamatório crônico macrofágico: macrófagos (*seta preta*) e células gigantes multinucleadas (*seta vermelha*) com material de coloração negra fagocitado. Material necrótico (*ponto preto*), (E) Grupo V (50%). Tecido fibrocelular (*asterisco*), infiltrado inflamatório crônico macrofágico e células gigantes multinucleadas (*seta vermelha*), (F) Ampliação da área demarcada na imagem E. Tecido fibrocelular (*asterisco*)..... 69

Figura 9 – Cortes histológicos representativos dos grupos no período de 30 dias. (A) Grupo I (0%). Tecido fibrocelular (*asterisco*) e macrófagos (*seta preta*), (B) Grupo II (15%). Tecido fibrocelular (*asterisco*) e macrófagos (*seta preta*), (C) Grupo III (20%). Tecido fibrocelular (*asterisco*) e macrófagos (*seta preta*), (D) Grupo IV (30%). Tecido fibrocelular (*asterisco*) e macrófagos (*seta preta*), (E) Grupo V (50%). Tecido fibrocelular (*asterisco*), macrófagos (*seta preta*) e material necrótico (*ponto preto*), (F) Ampliação da área de tecido fibrocelular demarcada na imagem D..... 73

Figura 10 – Cortes histológicos representativos dos grupos no período de 60 dias. (A) Grupo I (0%). Tecido fibrocelular (*asterisco*), macrófago (*seta preta*) e célula gigante multinucleada (*seta vermelha*), (B) Ampliação da área de tecido fibrocelular demarcada na imagem A, (C) Grupo II (15%). Tecido fibrocelular (*asterisco*), (D) Grupo III (20%). Tecido fibrocelular (*asterisco*), macrófago (*seta preta*) e célula gigante multinucleada (*seta vermelha*), (E) Grupo IV (30%). Tecido fibrocelular e macrófagos (*seta preta*), (F) Grupo V (50%). Tecido fibrocelular (*asterisco*)..... 77

- GRÁFICOS

Gráfico 1 - Média e desvio padrão da radiopacidade do cimento Portland com as diferentes concentrações de óxido de bismuto avaliadas..... 66
Gráfico 2 - Mediana, valores mínimo e máximo dos escores estabelecidos para a presença e intensidade do infiltrado inflamatório observado no período de 15 dias..... 79
Gráfico 3 - Mediana, valores mínimo e máximo dos escores estabelecidos para a presença e intensidade do infiltrado inflamatório observado no período de 30 dias..... 80
Gráfico 4 - Mediana, valores mínimo e máximo dos escores estabelecidos para a presença e intensidade do infiltrado inflamatório observado no período de 60 dias..... 80
Gráfico 5 - Mediana, valores mínimo e máximo dos escores estabelecidos para a quantificação das células inflamatórias em todos os períodos avaliados.... 81
Gráfico 6 - Mediana, valores mínimo e máximo dos escores estabelecidos para o fenômeno reparatório observado no período de 15 dias..... 83
Gráfico 7 - Mediana, valores mínimo e máximo dos escores estabelecidos para o fenômeno reparatório observado no período de 30 dias..... 83
Gráfico 8 - Mediana, valores mínimo e máximo dos escores estabelecidos para o fenômeno reparatório observado no período de 60 dias..... 84
Gráfico 9 - Mediana, valores mínimo e máximo dos escores estabelecidos para o fenômeno reparatório em todos os períodos avaliados..... 84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos animais em relação aos materiais e grupos..... 54

Tabela 2 - Média e desvio padrão da radiopacidade em mmAl dos materiais estudados. As diferenças estatísticas significantes estão representadas pelas letras diferentes sobrescritas (p<0,05)..... 65

Tabela 3 - Mediana, valores mínimo e máximo para o infiltrado inflamatório observado nos períodos de 15, 30 e 60 dias. As letras minúsculas sobrescritas aos valores indicam as diferenças estatísticas significantes em cada coluna em relação aos grupos (p<0,05). As letras maiúsculas sobrescritas aos valores indicam as diferenças estatísticas significantes em cada linha em relação aos períodos (p<0,05)..... 79

Tabela 4 - Mediana, valores mínimo e máximo para o fenômeno reparatório observado nos períodos de 15, 30 e 60 dias. As letras minúsculas sobrescritas aos valores indicam as diferenças estatísticas significantes em cada coluna em relação aos grupos (p<0,05). As letras maiúsculas sobrescritas aos valores indicam as diferenças estatísticas significantes em cada linha em relação aos períodos (p<0,05)..... 82

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

MTA	Mineral trioxide aggregate
ISO	International Standard Organization
mmAl	Milímetros de alumínio
IRM	Intermediate Restorative Material
ADA	American Dental Association
MSDS	Material Safety Data Sheet
$Ca(OH)_2$	Hidróxido de cálcio
CP	Cimento Portland
OB	Óxido de bismuto
mL	Mililitros
g	Gramas
mm	Milímetros
mA	Miliamperes
kV	Kilovolts
cm	Centímetros
µm	Micrômetros

SUMÁRIO

1	**INTRODUÇÃO**	15
2	**REVISÃO DE LITERATURA**	21
2.1	Radiopacidade	23
2.2	Citotoxicidade	29
3	**PROPOSIÇÃO**	45
4	**MATERIAL E MÉTODOS**	49
4.1	Materiais utilizados	51
4.2	Preparo dos cimentos	51
4.3	Análise da radiopacidade	51
4.4	Análise da reação tecidual	54
4.4.1	*Delineamento experimental*	54
4.4.2	*Materiais implantados*	54
4.4.3	*Procedimentos cirúrgicos*	55
4.4.4	*Obtenção das amostras*	57
4.5	Processamento laboratorial	57
4.6	Microscopia	59
4.6.1	*Análise microscópica descritiva*	59
4.6.2	*Análise microscópica quantitativa*	61
4.7	Tratamento estatístico dos dados	61
5	**RESULTADOS**	63
5.1	Radiopacidade	65
5.2	Análise microscópica descritiva	66
5.2.1	Período de 15 dias	66
5.2.1.1	*Cimento Portland puro (grupo I)*	66
5.2.1.2	*Cimento Portland com 15% de óxido de bismuto (grupo II)*	67
5.2.1.3	*Cimento Portland com 20% de óxido de bismuto (grupo III)*	67
5.2.1.4	*Cimento Portland com 30% de óxido de bismuto (grupo IV)*	67
5.2.1.5	*Cimento Portland com 50% de óxido de bismuto (grupo V)*	68
5.2.2	Período de 30 dias	71
5.2.2.1	*Cimento Portland puro (grupo I)*	71

5.2.2.2	*Cimento Portland com 15% de óxido de bismuto (grupo II)*	71
5.2.2.3	*Cimento Portland com 20% de óxido de bismuto (grupo III)*	71
5.2.2.4	*Cimento Portland com 30% de óxido de bismuto (grupo IV)*	71
5.2.2.5	*Cimento Portland com 50% de óxido de bismuto (grupo V)*	72
5.2.3	Período de 60 dias	75
5.2.3.1	*Cimento Portland puro (grupo I)*	75
5.2.3.2	*Cimento Portland com 15% de óxido de bismuto (grupo II)*	75
5.2.3.3	*Cimento Portland com 20% de óxido de bismuto (grupo III)*	75
5.2.3.4	*Cimento Portland com 30% de óxido de bismuto (grupo IV)*	76
5.2.3.5	*Cimento Portland com 50% de óxido de bismuto (grupo V)*	76
5.3	Análise microscópica quantitativa	79
5.3.1	Células inflamatórias	79
5.3.2	Fenômeno reparatório	82
6	**DISCUSSÃO**	87
6.1	Materiais empregados	89
6.2	Metodologia	92
6.2.1	*Avaliação da radiopacidade*	92
6.2.2	*Avaliação da resposta tecidual*	94
6.3	Resultados	96
6.3.1	*Radiopacidade*	96
6.3.2	*Resposta tecidual*	99
7	**CONCLUSÕES**	103
	REFERÊNCIAS	107
	ANEXOS	117

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

Os recursos da Odontologia moderna são concentrados na manutenção dos dentes naturais dos pacientes, e a cirurgia parendodôntica, último recurso disponível, está indicada quando o fracasso endodôntico e a inviabilidade do retratamento são constatados. Nesse tratamento cirúrgico, um dos propósitos, quando necessário, é a aplicação de um cimento retrobturador, que de acordo com PITT FORD *et al.* (1995), deverá promover o selamento da cavidade, evitando a infiltração para os tecidos periapicais de produtos microbianos, oriundos do sistema de canais radiculares, impedindo o processo de reparo (TROWBRIDGE; EMLING, 1997). A infiltração poderá ser de líquido intersticial, proveniente dos tecidos parendodônticos, acumulando-se na interface entre material obturador e parede dentinária, determinando o insucesso do procedimento cirúrgico em decorrência da ação tóxica do líquido intersticial acumulado, que entra em um processo degenerativo pela impossibilidade de renovação. A capacidade de selamento está vinculada às propriedades físicas e químicas do cimento, que devem ser adequadas (CAMILLERI; PITT FORD, 2008), bem como o seu comportamento biológico satisfatório que compreende ausência de ação citotóxica aos tecidos adjacentes, propiciando o processo de reparo e, se possível, estimular a formação de tecido mineralizado (REYES-CARMONA; FELIPPE; FELIPPE, 2009; PARANJPE; ZHANG; JOHNSON, 2010).

O agregado trióxido mineral (ATM), mais conhecido pela sigla em inglês MTA (Mineral trioxide aggregate) é um cimento que reúne as propriedades físicas, químicas e biológicas satisfatórias para um material retrobturador. Esse cimento foi desenvolvido na década de 90 na Universidade de Loma Linda, Califórnia (EUA), com o objetivo de selar as comunicações entre o sistema de canais radiculares e o periodonto, além de ser empregado como material retrobturador em cirurgias parendodônticas (LEE; MONSEF; TORABINEJAD, 1993; TORABINEJAD; WATSON; PITT FORD, 1993; PITT FORD, *et al.*, 1995; TORABINEJAD, *et al.*, 1995a; TORABINEJAD, *et al.*, 1997). O material apresenta satisfatórias propriedades biológicas como ausência de citotoxicidade e capacidade de formação de barreira mineralizada (TORABINEJAD, *et al.*, 1995b; TORABINEJAD, *et al.*, 1995c; TORABINEJAD, *et al.*, 1997; TORABINEJAD, *et al.*, 1998; KOULAOUZIDOU, *et al.*, 2008; PERINPANAYAGAM, 2009), pequena ação antimicrobiana (TORABINEJAD, *et al.*, 1995d; ESTRELA, *et al.*, 2000), e boas características físicas e químicas, incluindo

elevado pH, liberação de íons cálcio (DUARTE, *et al.*, 2003), tempo de presa adequado (PARIROKH; TORABINEJAD, 2010; VIVAN, *et al.*, 2010) e, embora o MTA apresente uma solubilidade elevada, este permanece na interface, dificultando o surgimento de falhas (REYES-CARMONA; FELIPPE; FELIPPE, 2009).

O cimento de Portland é o principal componente do MTA (WUCHERPFENNIG; GREEN, 1999; ESTRELA, *et al.*, 2000; MSDS, 2010). Após a descoberta da similaridade entre a composição do MTA e o cimento Portland, diversos estudos têm demonstrado as semelhanças nas propriedades físico-químicas e biológicas de ambos (HOLLAND, *et al.*, 2001a; SAIDON, *et al.*, 2003; RIBEIRO, *et al.*, 2005; COOMARASWAMY; LUMLEY; HOFMANN, 2007; CAMILLERI, 2008). Embora uma preocupação tenha sido manifestada, frente à hipótese da presença de um metalóide arsênico tóxico aos tecidos no cimento Portland, em 2005, DUARTE *et al.* avaliaram a liberação de arsênico pelo referido cimento e encontraram valores mínimos liberados, sendo semelhante à do MTA. Tais resultados foram reforçados por RIBEIRO *et al.* (2005) que não verificaram genotoxicidade *in vitro* para o cimento Portland e o MTA. Desse modo, o cimento Portland tem um grande potencial para ser utilizado como um material endodôntico, visto que os resultados biológicos apresentados são semelhantes ao MTA. Além disso, pode ser uma boa alternativa, uma vez que o MTA possui um custo elevado, não sendo acessível a toda a população.

O cimento Portland, no entanto, não possui radiopacificadores em sua composição, não sendo possível a sua visualização radiográfica. ISLAM; CHNG; YAP (2006) analisaram a radiopacidade do ProRoot MTA® branco e cinza e do cimento Portland branco e cinza e verificaram radiopacidades correspondentes a 6,74, 6,45, 0,95 e 0,93 mmAl, respectivamente. Segundo a norma ISO a radiopacidade mínima a ser apresentada pelos cimentos endodônticos é de 3 mmAl, sendo assim, o cimento Portland branco e cinza sem radiopacificador não apresentam uma radiopacidade suficiente para serem utilizados clinicamente (ISO, 2001). Com o objetivo de torná-lo radiopaco, existem inúmeras substâncias que podem ser empregadas, como iodofórmio, óxido de bismuto, óxido de chumbo, carbonato de bismuto, subnitrato de bismuto, sulfato de bário, óxido de zinco, óxido de zircônio e tungstato de cálcio (DUARTE, *et al.*, 2009). O radiopacificador presente na composição do MTA é o óxido de bismuto (Bi_2O_3) (MSDS, 2010), sendo uma substância de cor amarela, encontrado no mineral bismita, apresentando um peso molecular elevado de 466,0 g/mol (INDEX, 1996). Entretanto, a biocompatibilidade dos radiopacificadores como o óxido de bismuto tem sido questionada, pois seu efeito sobre as células humanas não está completamente esclarecido até o momento (KIM, *et al.*, 2008).

Diversos estudos têm sido realizados para se determinar uma concentração ideal de radiopacificador, que promova uma adequada radiopacidade sem alteração das propriedades físico-químicas do cimento Portland (BUENO, *et al.*, 2009; SALIBA, *et al.*, 2009). Por outro lado, há escassez de estudos que busquem estabelecer uma concentração ideal de radiopacificador, que não promova ação de citotoxicidade. Neste sentido, torna-se oportuna a realização da presente pesquisa a fim de se verificar qual concentração de radiopacificador proporcionará melhor comportamento biológico ao cimento Portland e avaliar a inter-relação aumento na concentração de radiopacificador e resposta tecidual.

2 Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão da literatura será apresentada de forma cronológica, envolvendo estudos sobre radiopacidade e citotoxicidade de cimentos utilizados na Endodontia, relevantes para o desenvolvimento deste trabalho.

2.1. Radiopacidade

BEYER-OLSEN; ORSTAVIK (1981) apresentaram um método padronizado e reproduzível para determinar a radiopacidade de materiais odontológicos. O método associa análise de densidade radiográfica de espécimes de tamanho padronizado com um objeto de alumínio, sob condições controladas de exposição e processamento do filme. Avaliaram aspectos metodológicos e realizaram a medida da radiopacidade de 40 materiais. Verificaram uma ampla variação entre os diferentes tipos de material pelo método proposto e pela avaliação clínica.

A norma ISO 6876 foi desenvolvida primeiramente em 1986, estabelecendo alguns parâmetros para a realização de testes físico-químicos para cimentos endodônticos. Em 2001, a norma foi revisada e modificada (ISO, 2001). Para o teste de radiopacidade a norma estabelece que os cimentos devam apresentar, pelo menos, um valor de radiopacidade correspondente a 3 mmAl. Para a realização do teste, a norma determina a utilização de anéis metálicos com 10 ± 0,1 mm de diâmetro interno e 1 ± 0,01 mm de altura, aparelho de raios-X operando a 65 ± 5 kV, filme oclusal grupo D ou E, escala de alumínio com 50 mm de comprimento e 20 mm de largura com variações de espessura de 0,5 mm a 9 mm.

TORABINEJAD *et al.* (1995a) avaliaram a radiopacidade do MTA e compararam com o amálgama, Super EBA e IRM. Empregaram o método descrito na norma 6876 da ISO. Os resultados demonstraram que o MTA apresentou radiopacidade equivalente a 7,17 mmAl, sendo mais radiopaco que o Super EBA e o IRM.

A radiopacidade de alguns materiais retrobturadores, como o amálgama, Kalnizol, IRM, Super EBA, Vitrebond, Fuji II LC, Chemfil e guta-percha foram analisados por SHAH *et al.* (1996). Os materiais preparados foram inseridos em anéis metálicos de 10 mm de diâmetro e 1 mm de altura e, em seguida, radiografados juntamente com uma escala de

alumínio. Constataram que os cimentos Vitrebond, Fuji II LC e Chemfil apresentaram valores de radiopacidade inferior ao padrão ISO (3 mmAl). Os cimentos Kalnizol, Super EBA e IRM apresentaram radiopacidade entre 5 e 8 mmAl. A guta-percha apresentou radiopacidade de 6,1 mmAl e o amálgama uma radiopacidade acima de 10 mmAl.

Em 1997 a radiopacidade dos cimentos N-Rickert, Fill canal, Sealer 26 e Sealapex foi avaliada por PETRY. Os materiais preparados foram inseridos no interior de tubos e após a presa foram estocados em recipiente úmido por 14 dias. Decorrido esse tempo, as amostras foram submetidas aos testes de radiopacidade por meio do sistema de imagem digitalizada Acu Ray. Os resultados demonstraram que não houve diferença estatística na radiopacidade entre os cimentos estudados. O Sealapex apresentou a menor densidade ótica, porém sem diferença estatística em relação aos demais.

LAGHIOS *et al.* (2000) compararam a radiopacidade do fosfato tetracálcio (TTCP) e 11 materiais retrobturadores (amálgama, Diaket, guta-percha, IRM, Super EBA, MTA, Advance, Fuji II LC, Geristore, Vitrebond e Ketac-Fil). Foram confeccionados espécimes de 2 mm de espessura dos cimentos com o auxílio de anéis metálicos. As amostras foram radiografadas juntamente com escala de alumínio. As densidades óticas dos espécimes e da escala de alumínio foram mensuradas. Os resultados revelaram que 9 dos materiais apresentaram radiopacidade aceitável sendo eles: amálgama, Diaket, guta-percha, IRM, Super EBA, MTA, Advance, Fuji II LC e Geristore. O fosfato tetracálcio e dois cimentos à base de ionômero de vidro (Vitrebond e Ketac-Fil) apresentaram radiopacidade insuficiente. Concluíram que o amálgama foi o material mais radiopaco, enquanto o Ketac-Fil o menos.

Uma nova metodologia para análise da radiopacidade de materiais endodônticos foi desenvolvida por TAGGER; KATZ (2003). Empregaram essa nova metodologia na análise de 21 cimentos endodônticos. Os cimentos manipulados foram inseridos em anéis de 6 mm de diâmetro e 1 mm de espessura e após a presa foram radiografados juntamente com escala de alumínio. A análise da radiopacidade foi feita por meio da digitalização das radiografias e mensuração em pixels, comparando aos da escala de alumínio empregando o software Ready Concept mComputerized System®. Concluíram que a técnica é viável e pode ser melhorada empregando os receptores de aparelhos digitais.

CHNG *et al.* (2005) avaliaram a radiopacidade do ProRoot® MTA branco e cinza e de um material experimental com melhores características de manipulação (VERRM). O material experimental apresentou valores de radiopacidade inferiores aos apresentados pelo ProRoot® MTA branco e cinza, porém sem diferença estatisticamente significante.

Concluíram que o VERRM apresenta propriedades físicas semelhantes ao MTA quando utilizado como material retrobturador.

Em 2006, ISLAM; CHNG; YAP, analisaram a radiopacidade dos cimentos ProRoot® MTA cinza e branco e do cimento Portland cinza e branco. Empregaram o método descrito na norma ISO 6876/2001. Os resultados demonstraram que a radiopacidade do cimento Portland cinza (0,93 mmAl) e branco (0,95 mmAl) foi inferior a apresentada pelo ProRoot MTA® cinza (6,45 mmAl) e branco (6,74 mmAl). Concluíram que os cimentos Portland cinza e branco não são recomendados para o uso clínico nos Estados Unidos da América e apontam a necessidade de mais estudos, avaliando a biocompatibilidade para permitir a sua utilização.

A radiopacidade do cimento MTA, cimento Portland e cimento Portland associado a óxido de bismuto, nas proporções de 1:1 e 2:1, foi estudada por COUTINHO-FILHO *et al.* (2008). Os cimentos foram inseridos em tubos de polietileno de 5 mm de comprimento e 1,5 mm de diâmetro interno. Os tubos preenchidos foram radiografados com aparelho de raios-X operando a 60 kV e 10 mA. Os resultados demonstraram que não houve diferença estatisticamente significante entre a radiopacidade do MTA e do cimento Portland associado ao óxido de bismuto na proporção de 1:1. Os cimentos Portland puro e associado ao óxido de bismuto na proporção de 2:1 apresentaram estatisticamente menores valores de radiopacidade em relação ao MTA e ao Portland com 50% de óxido de bismuto. Concluíram que o cimento Portland associado ao óxido de bismuto (1:1) apresentou uma radiopacidade semelhante ao MTA.

KIM *et al.* (2008), avaliaram também, a radiopacidade do cimento Portland contendo diferentes proporções de óxido de bismuto, 4:1 (20%), 6:1 (15%) e 8:1(10%) (CP/OB), em peso. A radiopacidade foi determinada de acordo com as normas da ISO 6876/2001 para materiais endodônticos. Discos do cimento/radiopacificador foram preparados com 10 mm de diâmetro e 1 mm de altura. Os corpos de prova foram radiografados com escala de alumínio com espessura de 1-10 mm, em aparelho de raios-X operando a 70 kV, 10 mA a 18 pulsos/s e distância foco-filme de 30 cm. Os resultados revelaram que a proporção de 4:1 (20% OB) propiciou maior radiopacidade, estatisticamente significante, que as proporções com menor concentração de óxido de bismuto. A conclusão foi de que o cimento Portland com 20% de óxido de bismuto é ideal para conferir uma radiopacidade adequada ao cimento.

TANOMARU-FILHO *et al.* (2008) avaliaram a radiopacidade de 5 materiais retrobturadores (MTA branco Angelus®, MTA cinza Angelus®, IRM, Super EBA e Sealer 26). Os materiais preparados foram inseridos em anéis metálicos de 10 mm de diâmetro e 1 mm de altura e, em seguida, radiografados juntamente com uma escala de alumínio de espessura variando de 2 a 16 mm. Os maiores valores de radiopacidade foram encontrados para os cimentos Sealer 26 e IRM, sendo de 5,9 e 5,7 mmAl, respectivamente. Os cimentos MTA branco e cinza e o Super EBA foram significativamente menos radiopacos que os demais, apresentado radiopacidade de 3 a 3,3 mmAl.

BORTOLUZZI *et al.* (2009), analisaram a radiopacidade do cimento Portland branco associado com diferentes radiopacificadores: óxido de bismuto, sulfato de bário, iodofórmio e óxido de zircônio. O MTA branco e cimento Portland branco sem radiopacificador foram utilizados como controle positivo e negativo, respectivamente. As proporções de cimento empregadas foram de 80% de Portland e 20% de radiopacificador, em peso. A metodologia foi realizada seguindo as normas ISO 6876/2001. Foram empregados anéis de Teflon medindo 10 mm de diâmetro interno e 1 mm de altura. Os espécimes circulares foram radiografados juntamente com escala de alumínio graduada com espessura variando de 2 a 16 mm. O teste de Tukey revelou uma diferença estatisticamente significante entre todos os cimentos, exceto entre o Portland acrescido de óxido de bismuto (5,88 mmAl) e o MTA (5,72 mmAl), sendo que ambos os cimentos apresentaram os maiores valores médios de radiopacidade, seguidos do cimento Portland acrescido de óxido de zircônio (3,87 mmAl) e Portland com iodofórmio (3,50 mmAl). Os menores valores de radiopacidade foram encontrados no cimento Portland acrescido de sulfato de bário e cimento Portland puro (2,35 e 1,69 mmAl, respectivamente), sendo abaixo do valor mínimo recomendado pela norma ISO. Todos os materiais testados, com exceção do cimento Portland puro e do cimento Portland acrescido com sulfato de bário, apresentaram uma radiopacidade satisfatória.

A concentração de óxido de bismuto adicionada ao cimento Portland branco, necessária para prover uma radiopacidade adequada para o uso endodôntico, foi estudada por BUENO *et al.* (2009). A metodologia foi baseada na especificação nº 57 da ADA (American Dental Association), que define os testes físicos para os cimentos endodônticos, inclusive a radiopacidade. Os cimentos MTA branco, Portland branco e Portland branco contendo 5%, 10%, 15%, 20%, 25% e 30% de óxido de bismuto em peso, foram separados em porções de 500 mg e espatulados com 0,5 mL de água destilada. Os cimentos foram inseridos em anéis metálicos com 10 mm de diâmetro e 2 mm de espessura. Os corpos de prova foram

radiografados a uma distância foco-filme de 40 cm e tempo de exposição de 0,25 s em um aparelho de 65 kV, 7 mA, juntamente com uma escala com espessura de 1-8 mmAl puro (densitômetro), observando a escala de cinza de 0 a 255. Os valores de radiopacidade para os cimentos Portland branco com 0, 5, 10, 15, 20, 25, ou 30% de óxido de bismuto foram de: 63,3; 95,7; 110,7; 142,7; 151,3; 161,0 e 180,0, respectivamente. O MTA apresentou a média de 157,3. Concluíram que o MTA branco possui uma radiopacidade adequada para a utilização em Endodontia. O cimento Portland branco deve possuir ao menos 15% de óxido de bismuto para apresentar a radiopacidade exigida para um cimento endodôntico.

GORDUYSUS; AVCU (2009) compararam a radiopacidade de oito cimentos obturadores em relação à guta-percha e a discos de dentina. Também foi avaliado o efeito da radiopacidade dos cimentos nas obturações de canais radiculares simulados obturados apenas com cimento ou pela técnica cone único com cones ProTaper. A metodologia empregada seguiu a norma 6876/2001 da ISO. Os cimentos avaliados foram o Diaket, Endion, MTA, Endofil, Roeko Seal, Sealite, AH26 e AH Plus. Foram preparados espécimes de 1 mm de altura e 4 mm de diâmetro de cada cimento e, em seguida, radiografados juntamente com uma escala de alumínio variando de 1 a 12 mm em espessura. Os canais simulados obturados também foram radiografados juntamente com a escala de alumínio. Em relação aos espécimes de cimento, todos apresentaram radiopacidade superior aos discos de dentina. Os cimentos Diaket, MTA e AH 26, apresentaram valores abaixo de 3 mmAl, já o cimento AH Plus apresentou o maior valor de radiopacidade (8,98 mmAl). Com relação aos canais simulados obturados apenas com cimento, o Diaket apresentou um valor de radiopacidade inferior a 3 mmAl (2,55 mmAl), enquanto o cimento AH Plus apresentou o maior valor (9,21 mmAl). Nos canais simulados obturados com cimento e guta-percha, a guta-percha apresentou uma radiopacidade correspondente a 5,04 mmAl. Os cimentos AH26 e Endofil diminuíram a radiopacidade da guta-percha para 4,09 e 4,20, respectivamente, enquanto o cimento Sealite apresentou a maior radiopacidade, sendo 8,44 mmAl. Concluíram que todos os cimentos apresentaram radiopacidade superior à dentina e a associação dos cimentos com a guta-percha pode afetar a radiopacidade do cimento.

DUARTE *et al.* (2009), analisaram a radiopacidade do cimento Portland com o acréscimo de diferentes radiopacificadores (óxido de bismuto, óxido de zinco, óxido de chumbo, subnitrato de bismuto, carbonato de bismuto, sulfato de bário, iodofórmio, tungstato de cálcio e óxido de zircônia) na proporção de 4:1 (80% de Portland e 20% de radiopacificador) em peso. O controle utilizado foi o cimento Portland puro e discos de dentina. Os cimentos foram preparados na proporção de 1 g de pó para 0,4 mL de líquido e

inseridos em discos metálicos com 10 mm de diâmetro e 1 mm de altura. O teste da radiopacidade foi realizado de acordo com as normas da ISO 6876/2001para materiais endodônticos. Os materiais foram radiografados juntamente com escala de alumínio com espessuras variando de 2 a 16 mm, aumentado em incrementos de 2 mm. A distância foco-filme foi de 30 cm, sendo o aparelho de raios-X 60 kV, 10 mA, com tempo de exposição de 0,3 s. A radiopacidade dos cimentos contendo radiopacificadores foi significativamente maior que a do Portland puro e da dentina, sendo que a dentina a apresentou radiopacidade significativamente maior que o Portland puro. Os resultados demonstraram que a melhor radiopacidade ocorreu com o cimento Portland com óxido de bismuto e Portland com óxido de chumbo, apresentado diferença estatisticamente significante em relação aos demais radiopacificadores.

HWANG *et al.* (2009) avaliaram comparativamente a radiopacidade do cimento Portland associado com óxido de bismuto, cimento Portland puro e MTA. O óxido de bismuto foi adicionado ao cimento Portland na proporção de 25% e 75%, respectivamente. A metodologia utilizada seguiu as normas ISO 6876. Os cimentos preparados foram inseridos em moldes metálicos com 10 mm de diâmetro interno e 1 mm de profundidade. Os espécimes de cimento foram radiografados com aparelho de raios-X operando a 70 kV, 7 mA a uma distância foco-filme de 30 cm, juntamente com escala de alumínio. Os resultados demonstraram que a radiopacidade do MTA foi similar ao cimento Portland com óxido de bismuto, sendo de 6,53 e 6,04 mmAl, respectivamente. O cimento Portland puro apresentou radiopacidade inferior a 3 mmAl (0,96 mmAl). O cimento Portland associado a 25% de óxido de bismuto apresentou uma radiopacidade semelhante ao MTA.

SALIBA *et al.* (2009) estudaram a radiopacidade e a resistência à compressão do cimento Portland puro e com adição de óxido de bismuto nas proporções de 10, 15, 20, 25 e 30% em peso. Foram utilizados anéis metálicos com 10 mm de diâmetro e 1 mm de altura. O teste de radiopacidade foi baseado nas normas ISO 6876/2002. Os espécimes foram radiografados com uma escala de alumínio com 11 diferentes espessuras, aumentando em 3 mm cada. Todos os cimentos testados, com exceção do cimento Portland sem adição de radiopacificador, apresentaram uma radiopacidade mínima recomendada pelo BS EM ISO 6876/2002, variando de 3,64 mmAl (10% de óxido de bismuto) até 9,79 mmAl (30% de óxido de bismuto). O acréscimo de óxido de bismuto em diferentes proporções não afetou a resistência a compressão do cimento Portland. Concluíram que a adição de óxido de bismuto não interferiu na resistência a compressão do cimento Portland. Com relação à radiopacidade,

todas as proporções de óxido de bismuto acrescidas ao cimento Portland conferiram radiopacidade mínima recomendada (acima de 3 mmAl).

A radiopacidade de cinco materiais obturadores retrógrados (MTA branco Angelus®, MTA Bio, MTA fotopolimerizável, Sealapox e clínquer de cimento Portland com óxido de bismuto e sulfato de cálcio) foi analisada por VIVAN *et al.* (2009). A dentina foi utilizada como controle. A metodologia seguiu as especificações ISO 6876. Amostras cilíndricas dos cimentos foram confeccionadas utilizando-se anéis metálicos de 10 mm de diâmetro e 1 mm de altura. Os espécimes foram radiografados juntamente com uma escala de alumínio variando de 2 a 16 mm em espessura. Todos os cimentos avaliados apresentaram valores de radiopacidade acima da dentina. O cimento MTA branco Angelus® apresentou a maior radiopacidade (6,45 mmAl), enquanto o MTA fotopolimerizável apresentou estatisticamente o menor valor em relação aos demais cimentos (1,21 mmAl). Concluíram que, exceto o MTA fotopolimerizável, os demais cimentos apresentaram radiopacidade acima de 3 mmAl, atendendo as normas da ISO.

CAMILLERI (2010) avaliou as propriedades físicas e químicas do cimento Portland contendo diferentes agentes radiopacificadores (sulfato de bário, liga de ouro e prata/estanho). MTA e IRM foram utilizados como controles. As propriedades avaliadas foram a radiopacidade, pH, tempo de presa, resistência à força de compressão e relação tensão-estresse. Para análise da radiopacidade foi seguida a norma ISO 6876/2002. O pH foi mensurado em água e fluido corporal simulado após os períodos de 1, 7, 14, 21 e 28 dias de imersão. O tempo de presa foi determinado por maio da técnica de endentação com agulha de 400g, segundo a norma ISO 9917-1/2007. O teste de resistência à força de compressão foi realizado seguindo a norma ISO 9917-1/2007. A relação tensão-estresse foi determinada pelo monitoramento da tensão gerada quando o cimento foi submetido à força de compressão. Os resultados demonstraram que, a radiopacidade dos cimentos contendo os radiopacificadores experimentais é estatisticamente semelhante ao MTA ($p>0,05$). O IRM apresentou o maior valor de radiopacidade dentre os materiais avaliados ($p<0,05$). Todos os cimentos, com exceção do IRM, apresentaram um pH alcalino. Em relação ao tempo de presa, todos os cimentos testados apresentaram um tempo maior que o IRM. O MTA apresentou um tempo de presa mais elevado que o cimento Portland, e semelhante ao cimento Portland contendo liga de ouro. A adição dos agentes radiopacificadores retardou o tempo de presa, porém não interferiu na resistência à força de compressão do cimento Portland. A relação tensão-estresse foi linear para o IRM gerando maior tensão. O autor concluiu que as propriedades físicas,

mecânicas e químicas do cimento Portland contendo agentes radiopacificadores alternativos foram similares ao ProRoot MTA e, que o óxido de bismuto presente na composição do MTA, pode ser modificado para a liga de ouro ou prata/estanho.

CAMILLERI; GANDOLFI (2010) identificaram a concentração de agentes radiopacificadores alternativos (sulfato de bário, óxido de titânio, óxido de zinco, ouro em pó e liga de prata/estanho em pó) para proporcionar uma radiopacidade satisfatória ao cimento à base de silicato de cálcio (cimento Portland) e avaliaram a composição dos agentes radiopacificadores. A composição química dos radiopacificadores alternativos e do óxido de bismuto foram determinadas por meio da análise da energia de raios-X dispersiva. A radiopacidade foi avaliada seguindo a norma ISO 6876/2002 e foram adicionadas diferentes concentrações dos agentes radiopacificadores ao cimento Portland, variando em 10, 15, 20, 25 e 30%. Os cimentos MTA e Portland foram utilizados como controle. Os resultados demonstraram que todas as porcentagens de óxido de bismuto, ouro e prata/estanho e, 25 e 30% de sulfato de bário e óxido de zinco apresentaram radiopacidade maior que 3 mmAl (mínimo recomendado pela ISO). A proporção de 25% de ouro em pó e 20% de liga prata/estanho em pó apresentaram radiopacidades correspondentes a 8,04 mmAl e 7,52 mmAl, respectivamente, sendo similares ao MTA ($p>0,05$). O cimento contendo 20% de óxido de bismuto apresentou radiopacidade de 6,83 mmAl, sendo abaixo do apresentado pelo MTA. A análise da composição mostrou que o óxido de zinco e o sulfato de bário são compostos por partículas finas. O óxido de bismuto é composto por partículas alongadas em forma de agulha, enquanto o ouro e o óxido de titânio por partículas esféricas e a liga prata/estanho partículas de corte de torno. Concluíram que a liga de prata/estanho e o ouro em pó transmitiram uma radiopacidade adequada ao cimento Portland e, que o sulfato de bário também apresentou uma radiopacidade adequada juntamente com uma baixa concentração de liga prata/estanho e ouro em pó.

2.2. Citotoxicidade e outras propriedades

O primeiro pesquisador a introduzir os tubos de polietileno em pesquisas de implantação subcutânea, foi TORNECK (1966). Ele avaliou a reação do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos frente à implantação de tubos de polietileno, relacionando a reação do tecido com o diâmetro e o comprimento dos tubos. Antes da implantação, os tubos foram desinfetados em solução de iodo, lavados em solução salina, secos com gazes e armazenados

em tubos estéreis. Em um grupo experimental os tubos foram mantidos com as duas extremidades abertas e no outro, uma das extremidades foi fechada termicamente. Após 60 dias de implantação, houve a formação de uma cápsula fibrosa ao redor dos implantes, rica em fibroblastos e fibras colágenas. Segundo o autor, a ausência de inflamação no tecido conjuntivo capsular indica a aceitabilidade do material.

No ano seguinte (1967), TORNECK comparou a reação do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos à implantação de tubos de polietileno contendo fragmentos de músculo contaminados e estéreis. Tubos de polietileno de variados comprimentos e diâmetros foram implantados cirurgicamente no dorso dos animais. Os tubos foram previamente desinfetados em solução de iodo, depois lavados em solução salina, secos com gaze e armazenados em tubos estéreis. Em um grupo, os tubos foram mantidos com as duas extremidades abertas e no outro, uma das extremidades foi termicamente fechada. Alguns tubos foram preenchidos com fragmentos de tecido muscular estéril da perna traseira do rato e outros foram preenchidos com tecido muscular contaminado com cocos Gram-negativos. Após 60 dias os animais foram mortos e o tecido contendo o tubo foi removido e preparado para análise microscópica. Os resultados indicaram que o prognóstico de reparo foi menos favorável quando a luz do tubo foi preenchida com os fragmentos musculares contaminados. Em ambas as condições do tubo preenchido (contaminado ou não), o reparo foi menos favorável do que quando o tubo estava estéril sem preenchimento algum.

OLSSON; SLIWKOWSKI; LANGELAND (1981) avaliaram por meio do método de implantação subcutânea em ratos, a biocompatibilidade de vários materiais endodônticos. Foram implantados tubos de teflon preenchidos com os materiais em teste: a cloropercha Nø, Kerr sealer e o AH-26. Os tubos de teflon de 7 mm de comprimento por 1,3mm de diâmetro foram esterilizados, preenchidos com os cimentos e implantados nos ratos. Foram avaliados os períodos de 14, 30, 90 e 180 dias. A reação tecidual foi classificada como suave, moderada ou severa. Aos 14 e 30 dias, observaram partículas do material dispersas no tecido que envolvia os tubos, em vasos sangüíneos, em macrófagos e como corpo estranho no interior de células gigantes. Outro achado comum foi 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 em todos os grupos. Vasos sangüíneos e corpos estranhos, no interior de células gigantes, foram achados muito freqüentes neste período. Os autores concluíram que o teste foi adequado para a avaliação qualitativa dos materiais endodônticos.

BERNABÉ; HOLLAND (1998) salientaram que, o fabricante do ProRoot MTA® modificou algumas informações contidas no MSDS (Material Safety Data Sheet) original,

acrescentando que o material é composto por 75% de cimento Portland, 20% de óxido de bismuto e 5% de sulfato de cálcio di-hidratado. Portanto o próprio fabricante do MTA admitiu a presença do cimento Portland na composição do produto, motivando os pesquisadores a realizar trabalhos comparando o MTA e o cimento Portland.

WUCHERPFENNIG; GREEN (1999) analisaram macro e microscopicamente o MTA e o cimento Portland. Para a análise da composição empregaram a análise por difração de raios X e na avaliação da biocompatibilidade empregaram teste em cultura de células empregando células osteoblásticas (MG3) e capeamento pulpar em dentes de ratos. Na análise por difração de raios X, constataram que ambos são constituídos principalmente por cálcio, fosfato e sílica. Na avaliação da biocompatibilidade em cultura de células, ambos os materiais apresentaram resultados semelhantes, e na avaliação após pulpotomia em dentes de ratos, o efeito dos materiais foi semelhante sobre as células pulpares, com formação de barreira mineralizada. As observações preliminares indicaram que o cimento Portland pode ser um material selador ideal, tanto quanto o MTA.

A composição química e a atividade antimicrobiana do MTA, cimento Portland, pasta de $Ca(OH)_2$, Sealapex® e Dycal® foram analisados por ESTRELA *et al.* (2000). Utilizaram quatro tipos de cepas bacterianas e um tipo de fungo: *Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, Pseudomonas aeroginosa, Bacillus subtilis e Candida albicans.* Foram realizados os testes de difusão e inibição em ágar para a análise da atividade antimicrobiana. Para a análise da composição química, utilizou-se espectrofotômetro de fluorescência. Os resultados demonstraram que em relação à análise da atividade antimicrobiana, apenas o $Ca(OH)_2$ promoveu halos de inibição. Os demais cimentos analisados, com exceção do Dycal®, apresentaram apenas halos de difusão. O Dycal® não apresentou halos de difusão ou inibição. Em relação à composição química, concluiu-se que os elementos químicos presentes no MTA eram semelhantes ao cimento Portland, com exceção do óxido de bismuto que está presente apenas no MTA. Constatou-se que o cimento Portland é composto de: CaO (58,5%), SiO_2 (17,7%), Al_2O_3 (4,5%), MgO (3,3%), SO_3 (3,0%), Fe_2O_3 (2,9%), K_2O (0,9%) e Na_2O (0,2%). Apesar da semelhança com o MTA, o cimento Portland pode conter impurezas que podem afetar a sua cristalização. Concluíram que as semelhanças na composição química entre MTA e cimento Portland justificam a semelhança na atividade antimicrobiana.

HOLLAND *et al.* (2001a) analisaram o processo de reparo do tecido pulpar de dentes de cães após pulpotomia e proteção pulpar direta com MTA e cimento Portland. Após a pulpotomia, 26 raízes foram protegidas com MTA ou cimento Portland e os tecidos removidos após 60 dias para análise histomorfológica. Os resultados demonstraram que houve

a formação de uma ponte de tecido mineralizado na maioria dos espécimes. Concluíram que o MTA e o cimento Portland apresentaram resultados similares quando utilizados para a proteção pulpar direta em dentes de cães.

HOLLAND *et al.* (2001b) analisaram a reação do tecido subcutâneo de ratos frente à implantação de tubos de dentina preenchidos com MTA, cimento Portland ou hidróxido de cálcio $Ca(OH)_2$. Tubos de dentina vazios foram utilizados como controle. Utilizaram 40 ratos, divididos em 4 grupos. Os animais foram sacrificados 7 e 30 dias após a implantação. Os tecidos foram preparados para análise microscópica com luz polarizada e técnica de Von Kossa. Os resultados demonstraram que houve inflamação crônica moderada em todos os espécimes aos 7 e 30 dias. Os resultados foram similares para os três materiais estudados. Próximo à extremidade dos tubos foram observadas granulações Von Kossa positivas, birrefringentes à luz polarizada, e próximo a elas um tecido irregular na forma de ponte. Concluíram que o óxido de cálcio contido no MTA e possivelmente no cimento Portland seja o responsável pela formação destas granulações, reação esta que também ocorre com o $Ca(OH)_2$, levando-os a crer que o mecanismo de indução de tecido mineralizado do MTA e do cimento Portland possivelmente seja o mesmo do $Ca(OH)_2$.

COSTA; BACALHAU; HEBLING (2003) avaliaram a intensidade da resposta tecidual frente à implantação de tubos de polietileno contendo quatro cimentos no tecido subcutâneo de ratos: MTA, MTA ProRoot®, óxido de zinco e eugenol e como controle o cimento de hidróxido de cálcio. Após os períodos de 7, 30 e 90 dias os animais foram sacrificados e os tecidos removidos para análise histológica. Os resultados demonstraram que todos os materiais desencadearam resposta inflamatória aos 7 dias. O MTA foi o material menos irritante, enquanto o óxido de zinco e eugenol apresentou a resposta inflamatória mais significante. Com o decorrer dos períodos houve diminuição do processo inflamatório. No período de 90 dias, houve completo reparo tecidual associado à formação de delgada cápsula fibrosa, sem presença de macrófagos ou células gigantes. Concluíram que a resposta inflamatória provocada pelo cimento MTA foi inferior à dos demais cimentos avaliados.

SAIDON *et al.* (2003) compararam o efeito citotóxico e a reação tecidual do MTA (ProRoot®) e do cimento Portland na implantação óssea em mandíbula de porquinhos da Índia. Para a análise da citotoxicidade, os cimentos recém manipulados ou tomados presa foram inseridos em placas de cultura contendo células da linhagem L929. Após um período de incubação de 3 dias, a morfologia e o número das células foram analisados. Para a avaliação da reação tecidual, os materiais recém manipulados foram implantados na sínfise da mandíbula, bilateralmente, dos porquinhos da Índia. Cada animal recebeu 2 implantes, sendo

um com ProRoot® e um com cimento Portland. Os animais foram sacrificados após 2 ou 12 semanas e os tecidos processados histologicamente. Os resultados demonstraram que em relação à citotoxicidade não houve diferença na reação das células. A análise histológica mostrou que houve um reparo ósseo e mínima resposta inflamatória ao redor dos cimentos ProRoot® e Portland em ambos os períodos experimentais, sugerindo que os materiais foram bem tolerados. Concluíram que o MTA e o cimento Portland apresentaram biocompatibilidade semelhante quando avaliados *in vitro* e *in vivo*. Os resultados sugeriram que o cimento Portland tem o potencial de ser utilizado como um material retrobturador mais barato.

TRINDADE; OLIVEIRA; FIGUEIREDO (2003) avaliaram a resposta inflamatória do tecido subcutâneo de ratos à implantação de tubos de polietileno preenchidos com os cimentos MTA, cimento Portland e cimento Portland com óxido de bismuto a 20 e 30%. Os períodos avaliados foram de 7, 15 e 30 dias. A análise histológica foi realizada de acordo com critérios de severidade da reação inflamatória. Os resultados demonstraram que não houve diferença estatisticamente significante entre a resposta tecidual dos materiais testados nos três períodos avaliados. Houve uma significativa redução do processo inflamatório ao longo do tempo.

CAMILLERI *et al.* (2004) examinaram a biocompatibilidade de duas formas comerciais de MTA (ProRoot MTA cinza e branco) por meio da avaliação da morfologia de uma determinada linhagem celular. Os cimentos foram colocados em lâminas de vidro e deixados para a presa por 1 ou 28 dias. Células de osteosarcoma da linhagem Saos-2 foram tripanizadas e semeadas em meio de cultura sobre os materiais nas lâminas de vidro. As células foram expostas aos cimentos por 1, 5 e 7 dias. Após os intervalos de tempo o meio de cultura foi descartado e as células fixadas. A análise da morfologia celular foi realizada por meio de microscópio eletrônico com aumentos de 250× a 500×. A biocompatibilidade dos componentes presentes nos cimentos (alusilicato e óxido de bismuto) também foi analisada. Os resultados demonstraram que todas as amostras dos cimentos que tomaram presa por 1 dia mostraram uma monocamada confluente de células após 5 e 7 dias. A resposta a ambos os materiais avaliados foi similar. Os materiais que tomaram presa por 28 dias mostraram uma confluência celular incompleta após 1 e 5 dias. Os componentes alusilicato e óxido de bismuto não apresentaram biocompatibilidade.

JUÁREZ BROON (2004) avaliou a resposta dos tecidos periodontais de dentes de cães ao selamento de perfurações com MTA ProRoot®, MTA Angelus® e cimento Portland branco, aos quais foi adicionado ou não cloreto de cálcio a 10%. Foram utilizados 4 cães e 36

dentes no total. As perfurações foram realizadas com broca em direção à furca. Em seguida, as perfurações foram seladas com os materiais avaliados. Os animais foram sacrificados após 90 dias e as peças processadas para análise histológica. Os resultados demonstraram que houve formação de tecido mineralizado, fechando total ou parcialmente as perfurações, porém, com inflamação, especialmente nos dentes em que houve extravasamento de material selador. Não houve diferença estatística entre os materiais avaliados ($p>0,05$). Todos os materiais com ou sem cloreto de cálcio, mostraram resposta favorável, criando condições biológicas que favoreceram o reparo no local da perfuração.

MENEZES *et al.* (2004) investigaram a resposta pulpar de dentes de cães após pulpotomia e proteção pulpar direta com os cimentos MTA Angelus®, ProRoot®, Portland cinza e Portland branco. Os espécimes foram removidos após 120 dias e os tecidos analisados. Todos os materiais apresentaram resultados similares quando utilizados como materiais de capeamento pulpar. A vitalidade pulpar foi mantida em todos os espécimes e houve a formação de tecido mineralizado.

CAMILLERI *et al.* (2005) avaliaram a composição química e biocompatibilidade do MTA e do cimento Portland acelerado. A composição química do cimento Portland cinza e branco, do MTA cinza e branco e do cimento Portland acelerado foi determinada por meio da análise dispersiva de raios X e análise por difração de raios X. A biocompatibilidade dos materiais foi avaliada utilizando-se um teste de contato direto em células humanas da linhagem osteossarcoma. A proliferação celular foi mensurada indiretamente. Os resultados demonstraram que a composição química dos materiais testados foi similar. Na análise do crescimento celular por meio do método indireto mostrou um aumento da atividade celular após 24 horas em relação ao grupo controle em meio de cultura ($p<0,05$). O contato celular direto com os cimentos resultou em uma queda na viabilidade celular para todos os períodos analisados. Concluíram que os testes de biocompatibilidade mostraram a ausência de efeito tóxico no MTA cinza e branco, e a adição de óxido de bismuto ao cimento Portland acelerado não interferiu na biocompatibilidade.

DE DEUS *et al.* (2005) analisaram o efeito citotóxico de duas marcas de cimento MTA (ProRoot® MTA e MTA Angelus®) e o cimento Portland em células humanas endoteliais da linhagem ECV 304. As células foram incubadas a 37°C durante 7 dias. O efeito dos materiais nas funções mitocondriais foram mensuradas pelo método de colorimetria. Após cada período experimental (24, 48 e 72 horas) a viabilidade celular foi mensurada. Os ensaios foram repetidos 3 vezes para assegurar a reprodutibilidade. Não houve diferença estatisticamente significante entre os grupos experimentais ($p>0,05$). As 2 marcas de MTA e

o cimento Portland inicialmente mostraram uma similar elevação do efeito citotóxico, que diminuiu gradualmente com o tempo, permitindo que a cultura de células se restabelecesse.

DUARTE *et al.* (2005) estudaram a liberação de arsênico de duas marcas comerciais de MTA (ProRoot® e MTA Angelus®), 2 marcas de cimento Portland cinza (Votorantim® e Ribeirão®) e uma de cimento Portland branco (Irajá®). Os materiais foram espatulados e colocados em tubos plásticos e imersos em frascos de vidro contendo água e um reagente. A presença de arsênico foi analisada no período entre 3 a 168 horas de imersão através da espectrofotometria de absorção atômica. Os níveis de arsênico liberados foram similares entre as diferentes marcas de MTA e cimento Portland, estando bem abaixo dos níveis considerados nocivos à saúde. Concluíram que os cimentos são seguros para o uso na prática clínica em relação à concentração de arsênico.

RIBEIRO *et al.* (2005) avaliaram o efeito genotóxico e citotóxico do MTA e do cimento Portland *in vitro*, empregando o teste cometa para genotoxicidade e o teste de exclusão com azul de tripan para verificar a citotoxicidade. As células utilizadas foram de linfoma de rato. Os resultados demonstraram que o método cometa falhou na detecção de danos ao DNA após a exposição das células ao MTA e ao cimento Portland em concentrações de 1000 $\mu g/mL^{-1}$. Resultados semelhantes mostraram que nenhum dos cimentos foi citotóxico. Concluíram que a análise indicou que o MTA e o cimento Portland não são genotóxicos e não induzem a morte celular.

DE-DEUS *et al.* (2006) compararam a habilidade do cimento Portland e do MTA para prevenir a infiltração coronária por meio de perfurações de furca seladas. Foram utilizados 36 molares inferiores que tiveram a abertura coronária realizada e a localização dos canais. Os dentes foram seccionados horizontalmente no terço médio. Um compósito de resina foi utilizado para preencher a embocadura e o ápice dos canais. Perfurações foram criadas no centro do assoalho da câmara pulpar utilizando broca esférica número 3. Os dentes foram divididos em 2 grupos experimentais e 1 grupo controle. Os grupos experimentais tiveram as perfurações reparadas com MTA ou cimento Portland, enquanto que o grupo controle não teve a perfuração selada. Cada dente foi inserido em um tubo de silicone contendo meio de cultura misturado à saliva humana. O sistema foi incubado a 37°C e verificado diariamente para a detecção de turvação durante um período de 50 dias. Os resultados demonstraram que 53% das amostras do grupo MTA e 60% das amostras do grupo cimento Portland foram contaminadas aos 50 dias. Não houve diferença estatisticamente significante entre os dois grupos ($p>0,05$). Concluíram que o cimento Portland e o MTA demonstraram uma habilidade similar para selar as perfurações de furca.

DE MORAIS *et al.* (2006) avaliaram a biocompatibilidade do cimento Portland com a adição de iodofórmio, comparado ao MTA (ProRoot®). Dezoito ratos albinos da linhagem Wistar foram divididos em 3 grupos de seis animais cada. Tubos de polietileno foram preenchidos com os materiais recém-espatulados (MTA ou cimento Portland com 20% de iodofórmio) e implantados no tecido subcutâneo. Tubos vazios foram implantados como controle. Os animais foram mortos e os tecidos removidos após 7, 30 e 60 dias após a implantação. Foram analisadas a presença e a espessura da cápsula fibrosa, tecido de granulação e severidade da resposta inflamatória. Os dados foram submetidos a teste estatístico não paramétrico com comparações individuais entre os grupos e um nível de significância de $p<0,05$. Os resultados demonstraram que não houve diferença estatística entre a resposta inflamatória entre os períodos de 7 e 30 dias. Aos 60 dias houve reação tecidual significativamente maior do MTA e cimento Portland em comparação com o controle. Concluíram que não houve diferenças estatísticas entre o MTA e o cimento Portland a 7, 30 e 60 dias. Após 60 dias, a cápsula fibrosa ao redor do cimento Portland se apresentou mais organizada do que ao redor do MTA.

RIBEIRO *et al.* (2006) examinaram a citotoxicidade do MTA e cimento Portland *in vitro*, empregando o teste cometa para genotoxicidade e o método de exclusão com azul de tripan. Células de ovário de hamster chinês foram expostas ao MTA e ao cimento Portland a uma concentração variando de 1 a 1000 $\mu g/mL^{-1}$ por 1 hora. Todos os cimentos testados não apresentaram efeitos genotóxicos nas concentrações avaliadas. Não foi observada diferença significante na citotoxicidade para os cimentos testados ($p>0,05$). Concluíram que o MTA e o cimento Portland não apresentam efeito genotóxico e não são capazes de induzir a morte celular.

SONG *et al.* (2006) avaliaram a composição química e estrutural do cimento Portland, MTA ProRoot® cinza, MTA ProRoot® branco e MTA Angelus® cinza. Foi utilizada a análise por difração de raios X para identificar e caracterizar as fases cristalinas, e espectrofotômetro de energia dispersiva para determinar a composição química dos materiais testados. Foram analisadas as formas em pó e após a espatulação. Os resultados demonstraram que a estrutura cristalina e composição química do MTA cinza e branco foi similar, exceto para a presença de ferro no MTA cinza. Ambos são compostos principalmente de óxido de bismuto e óxido de silicato de cálcio, enquanto o cimento Portland é composto de óxido de silicato de cálcio e não contém óxido de bismuto. O MTA Angelus® cinza apresenta um conteúdo menor de óxido de bismuto que o ProRoot® MTA. Não existem diferenças significantes nas estruturas cristalinas e composição química entre o pó e o cimento

espatulado para todos os materiais testados. Concluíram que o cimento Portland difere do MTA por não conter óxido de bismuto e apresentar íons potássio. O MTA cinza contém uma quantidade significante de ferro em comparação com o MTA branco. Além disso, o MTA Angelus® apresenta menor quantidade de óxido de bismuto que o MTA ProRoot®.

DE-DEUS; COUTINHO-FILHO (2007) apresentaram um caso clínico em que houve um reparo periapical substancial após o uso do cimento Portland branco para realização de tampão apical em dente imaturo com ápice incompleto. A análise radiográfica indicou que o dente 35 apresentava-se com o ápice incompleto e com uma área radiolúcida periapical. O canal foi instrumentado manualmente e irrigado com hipoclorito de sódio a 5%. Pequenos pedaços de esponja de colágeno reabsorvível foram acondicionados além do ápice com o objetivo de criar uma barreira periapical para a compactação do material de enchimento. O cimento Portland foi então manipulado com água estéril e inserido na porção apical do canal (aproximadamente 3 mm). Após 7 meses da intervenção o paciente retornou e a radiografia periapical revelou um completo reparo da região periapical. O restante do canal foi então obturado com guta-percha termoplastificada. A proservação após 1 ano indicou uma função clínica adequada do material, ausência de sintomas clínicos e sinais de rarefação óssea periapical. Concluíram que a resolução clínica favorável deste caso pode encorajar o uso do cimento Portland branco como tampão apical em dentes com ápice incompleto com necrose pulpar.

MIN *et al.* (2007a) investigaram os efeitos citotóxicos e a capacidade de produzir óxido nítrico (NO) do cimento Portland com óxido de bismuto em células da polpa dentária humana. Também foi avaliado se a heme oxigenase (HO-1) está envolvida na indução de citotoxicidade do cimento Portland com óxido de bismuto. A citotoxicidade e a capacidade de produção de óxido nítrico pelo cimento Portland com óxido de bismuto superou o cimento Portland puro a 12 e 24 horas.

MIN *et al.* (2007b) analisaram os efeitos do cimento Portland em cultura de células de polpa humana. Os demais materiais testados foram os cimentos Fuji II LC (ionômero de vidro), o IRM e o Dycal. As células foram expostas aos cimentos e a viabilidade celular mensurada. Os resultados demonstraram que, com exceção do cimento Portland, todos os demais cimentos apresentaram uma diminuição na viabilidade celular após 12 horas. O cimento Portland apresentou significativamente maior viabilidade celular a 12, 24, 48 e 72 horas que os demais cimentos. O cimento Portland apresentou uma viabilidade celular semelhante ao grupo controle. Em comparação com os demais cimentos, o Portland não apresentou citotoxicidade. A análise sob microscopia eletrônica de varredura mostrou que as

células em contato com o cimento Portland apresentavam-se achatadas e com numerosas extensões citoplasmáticas. Em relação à expressão de RNAm relacionados à mineralização, houve uma indução no grupo do cimento Portland. Concluíram que o cimento Portland é biocompatível, permitindo a expressão de genes relacionados à mineralização em culturas de células humanas, e possui o potencial de ser utilizado como material capeador pulpar.

BRAZ *et al.* (2008) investigaram se alguns radiopacificadores como o sulfato de bário, óxido de zircônio e óxido de bismuto podem induzir danos genéticos em células humanas. Os materiais foram preparados em concentrações de 1 a 1000 $\mu g/mL^{-1}$ e expostos à linfócitos por 1 hora. O controle negativo utilizado foi solução de PBS e como controle positivo solução de peróxido de hidrogênio. Os resultados apontaram que os radiopacificadores testados não induziram lesões no DNA dos linfócitos nas concentrações utilizadas.

COUTINHO-FILHO *et al.* (2008) analisaram a reação do tecido subcutâneo de ratos à implantação de tubos de polietileno contendo os cimentos MTA, Portland puro e Portland com óxido de bismuto nas proporções de 1:1 e 2:1. Os tubos implantados apresentavam 5 mm de comprimento e 1,5 mm de diâmetro interno. Os períodos analisados foram de 7 e 60 dias. Os resultados demonstraram que nos período de 7 e 60 dias não houve diferença estatística entre os grupos em relação à reação tecidual. Concluíram que não houve diferença na biocompatibilidade entre os cimentos.

GANDOLFI *et al.* (2008) analisaram a biocompatibilidade *ex vivo* de um cimento experimental de cimento Portland, comparando com o ProRoot® MTA branco e AH Plus. Os cimentos foram misturados com solução de anestésico local (articaína 4%) para formar uma pasta. Para a análise da biocompatibilidade empregaram cultura de células osteoblásticas humanas, sendo que o material endurecido ou ele preparado em extrato com meio de cultura foi colocado em contato as células durante 72 horas. O crescimento celular, viabilidade, adesão e fatores morfológicos foram analisados para verificação das interações célula/material. Nenhuma toxicidade aguda ocorreu provocada pelos materiais experimentais. Os osteoblastos apresentaram proliferação e adesividade na presença dos materiais experimentais. Os achados ultraestruturais confirmaram a adesão e proliferação daquelas células. Observaram a manutenção fenotípica do osteoblasto pelo método da fosfatase alcalina. Concluíram que os cimentos experimentais propiciaram crescimento das células ósseas, podendo ser empregado como material obturador e retro-obturador.

KIM *et al.* (2008), avaliaram a citotoxicidade do cimento Portland contendo óxido de bismuto nas proporções de 4:1, 6:1 e 8:1 (CP/OB), cimento Portland puro e MTA. No experimento foram utilizadas culturas de células humanas do ligamento periodontal e o teste de metiltetrazólio foi empregado para verificação da viabilidade celular após contato com os cimentos. Os períodos avaliados foram de 12, 24, 48 e 72 horas. As células em contato com os cimentos MTA e Portland puro mostraram estatisticamente maior viabilidade nos períodos de 12 e 24 horas em comparação com as células em contato com cimentos associados ao óxido de bismuto. Houve maior viabilidade celular nos períodos de 48 e 72 horas para o cimento Portland com óxido de bismuto nas proporções de 4:1, 6:1 e 8:1 que para o MTA e o Portland puro. Com o estudo puderam concluir que a proporção mais adequada de óxido de bismuto, associado ao cimento Portland, é de 20% ou 4:1.

MONTEIRO BRAMANTE *et al.* (2008) avaliaram diversos tipos de MTA (MTA-Obtura®, MTA experimental, MTA Angelus® branco, MTA Angelus® cinza e ProRoot® MTA) e cimentos Portland (cimento Portland modificado – CPM®, CPM sealer®, cimento Portland cinza e cimento Portland branco) para verificar se apresentavam níveis de arsênico que cumpriam as recomendações da norma ISO 9917-1, que especifica um valor máximo de 2 mg de arsênico por kilo de cimento. Um total de 5 mL de ácido hidroclorídrico foi adicionado a 2 g de MTA e cimento Portland para análise. Após 15 minutos, o material foi filtrado e o volume do sobrenadante diluído com reagente até totalizar 40 mL. Foram feitas análises em espectrofotômetro de absorção atômica. Os resultados demonstraram que todos os materiais avaliados apresentaram arsênico em sua composição. Apenas o MTA-Obtura®, MTA Angelus® branco, e cimento Portland branco apresentaram níveis de arsênico abaixo do limite recomendado pela ISO 9917-1.

VOSOUGHHOSSEINI *et al.* (2008) compararam a resposta inflamatória do MTA cinza e branco em tecido subcutâneo de ratos. Os cimentos foram implantados em tubos de polietileno. Tubos vazios foram utilizados como controle. Os períodos analisados foram de 7, 15, 30, 60 e 90 dias após a implantação. As reações inflamatórias foram classificadas em: 0 – sem inflamação, 1 – leve (< 25 células inflamatórias), 2 – moderada (25-125 células), e 3 – severa (> 125 células). Os resultados demonstraram que os dois tipos de MTA provocaram inflamação severa após 7 dias, sendo significativamente maior que no grupo controle ($p<0,05$). Não houve diferença entre os grupos nos demais períodos ($p>0,05$).

CONTI *et al.* (2009) relataram dois casos clínicos em que o cimento Portland foi aplicado como material capeador pulpar direto após pulpotomia em dentes decíduos. O procedimento de pulpotomia foi realizado nos primeiros molares inferiores e em um segundo

molar inferior. O cimento Portland foi esterilizado em óxido de etileno, espatulado com água estéril e assentado na câmara pulpar. Os dentes foram selados com ionômero de vidro. A proservação foi realizada após 3, 6 e 12 meses. O exame radiográfico revelou a ausência de alteração periapical. Verificou-se ausência de sintomatologia espontânea e preservação da vitalidade pulpar no exame clínico, sendo caracterizado como sucesso. Além disso, houve a formação de barreira mineralizada abaixo do material. Pode-se concluir que o cimento Portland é uma alternativa como material para capeamento pulpar em dentes decíduos. Apontam a necessidade de mais estudos com tempo de proservação maior e maior número de amostras para que haja a possibilidade do uso do cimento Portland na clínica Odontopediátrica.

HWANG *et al.* (2009) compararam a biocompatibilidade do cimento Portland contendo 25% óxido de bismuto em peso com a do cimento Portland puro e do MTA. O experimento realizado foi teste de citotoxicidade em cultura de células humanas do ligamento periodontal e em tecido subcutâneo de ratos. Para o teste de citotoxicidade em culturas de células, estas foram expostas aos cimentos avaliados por um período de até 72 horas. No teste da reação tecidual, os materiais foram inseridos no interior de tubos de polietileno de 1 mm de diâmetro e 10 mm de comprimento e implantados no tecido subcutâneo do dorso dos ratos. As análises da reação tecidual foram feitas após 10, 30 e 60 dias após a implantação. Na cultura de células e na reação tecidual os resultados demonstraram que não houve diferença estatística entre os grupos experimentais. Concluíram que o cimento Portland puro e com óxido de bismuto apresentaram uma biocompatibilidade semelhante ao MTA.

MARTÍNEZ LALIS *et al.* (2009) compararam a reação tecidual do Portland modificado (CPM) e do MTA desenvolvida em tecido subcutâneo de ratos. Foram utilizados 24 ratos machos. Cada animal recebeu 3 tubos, um contendo MTA, outro CPM e outro vazio. Os animais foram mortos após 7, 14 e 30 dias e os tecidos processados histologicamente. A análise dos resultados revelou que no período de 7 dias os tubos vazios apresentaram um leve infiltrado inflamatório. No grupo CPM, um infiltrado inflamatório foi observado com alguns eosinófilos e tecido conjuntivo imaturo. O grupo MTA mostrou um infiltrado semelhante sem eosinófilos e presença de abundante tecido necrótico e numerosas células gigantes multinucleadas do tipo corpo estranho. No período de 14 dias, grupo CPM, o infiltrado crônico com eosinófilos persistiu. No grupo MTA, ainda foi observada necrose e presença de células gigantes. No período de 30 dias, todos os 3 grupos mostraram tecido fibroso maduro. Todavia houve uma resposta diferente para os materiais avaliados nos períodos iniciais. O MTA e o CPM induziram um infiltrado inflamatório crônico, necrose e células gigantes do

tipo corpo estranho, predominantes no grupo MTA, enquanto que no grupo CPM foram observados numerosos eosinófilos em todos os períodos.

MIN *et al.* (2009) investigaram a capacidade do cimento Portland com óxido de bismuto na proporção de 4:1, facilitar o processo de mineralização em células humanas da polpa dental em comparação com o cimento Portland puro. Como controle foram utilizadas lamínulas de vidro. As culturas de células foram expostas aos materiais as análises foram feitas em microscopia eletrônica de varredura, além da análise da atividade da fosfatase alcalina, formação nodular de tecido mineralizado e a expressão de RNAm. Com relação à morfologia das células nos grupos experimentais as células apresentaram prolongamentos, interagindo com os materiais e com as células adjacentes. As características das células foram semelhantes entre os grupos experimentais e o controle. A atividade da fosfatase alcalina apresentou um aumento no período de 1 dia, porém uma diminuição a 3, 7 e 14 dias para os grupos experimentais em comparação com o controle. Em relação à formação de nódulos mineralizados, houve um aumento a 14 e 21 dias após a adição dos cimentos experimentais. Pode-se concluir que o cimento Portland com óxido de bismuto é biocompatível e pode facilitar a diferenciação odontoblástica de células humanas da polpa em períodos curtos e longos, assim como o cimento Portland puro. Relataram, ainda, que o cimento Portland com óxido de bismuto pode ser utilizado no capeamento pulpar direto.

RIBEIRO *et al.* (2009), avaliaram se diferentes agentes radiopacificadores seriam capazes de induzir danos genéticos às células. Os radiopacificadores testados foram o sulfato de bário, óxido de bismuto e óxido de zircônio. A cultura de células foi feita utilizando-se fibroblastos (linhagem 3T3-L1), mantidos por 15 dias em cultura. As células foram expostas aos materiais dissolvidos em PBS (phosphate-buffered saline) em concentrações variando de $10\mu g/mL^{-1}$ a $1000\mu g/mL^{-1}$ durante 1 hora. Após o período foi avaliada a genotoxicidade dos materiais. Os resultados demonstraram que todos os materiais nas concentrações analisadas não causaram danos ao DNA das células.

SAKAI *et al.* (2009) avaliaram clínica e radiograficamente o MTA e o cimento Portland utilizados como agentes capeadores pulpares em dentes decíduos cariados. Foram utilizados 30 primeiros molares inferiores decíduos. Após o procedimento de capeamento os dentes foram selados com ionômero de vidro modificado por resina. A avaliação clínica e radiográfica foi realizada após 6, 12, 18 e 24 meses. As análises demonstraram que todos os dentes apresentaram sucesso clínico e radiográfico nos períodos avaliados. Verificaram que 6 de 15 dentes em que o cimento Portland foi utilizado e 5 de 14 dentes do grupo MTA exfoliaram durante o período de proservação. Não houve diferença estatística entre os grupos

em relação à formação de barreira mineralizada. Em relação à obliteração do canal radicular, houve diferença estatisticamente significante no período de proservação de 6 meses ($p<0,05$) entre os grupos, com o início da deposição de tecido mineralizado detectado em 100% e 54,14% dos dentes tratados com cimento Portland e MTA, respectivamente. Concluíram que o cimento Portland é um material efetivo e que tem o potencial de substituir o MTA, porém sendo necessária para isso, a realização de mais estudos.

D'ANTÒ *et al.* (2010) avaliaram a habilidade do MTA e do Cimento Portland branco de suportar a adesão, proliferação e migração de células ósseas derivadas da medula óssea humana (hMSCs). O MTA branco e o cimento Portland branco foram manipulados e deixados para presa durante 24 horas. As células foram expostas em meio de cultura aos cimentos e observadas após 24 horas por meio de microscopia a laser confocal com auxílio de marcador celular. A proliferação celular foi analisada por meio de alamar azul na presença e ausência de diferenciação durante um período de 28 dias. Os resultados demonstraram que as células apresentaram adesão e atividade de crescimento na superfície do MTA. A proliferação celular foi significativamente maior no MTA que no cimento Portland. A taxa de proliferação aumentou no grupo MTA, comparado com o controle observado após 14 dias na presença de meio básico, enquanto que o mesmo efeito foi alcançado após 21 dias na presença de meio diferenciado. Além disso, o MTA foi capaz de aumentar a migração celular significativamente mais que o cimento Portland. Concluíram que o MTA apresentou maior habilidade na adesão, crescimento e migração celular.

LEE *et al.* (2010) investigaram o efeito do cimento fosfato de cálcio no crescimento e diferenciação de odontoblastos bem como a atividade da fosfatase alcalina e os níveis de RNAm de genes relacionados à diferenciação, em comparação com o cimento Portland e o MTA. Foram utilizados cimentos experimentais de fosfato de cálcio contendo quitosana (Ch-CPC) e sem (CPC), além do cimento Portland e do MTA. Os resultados demonstraram que os cimentos Ch-CPC e CPC diminuíram a proliferação celular, porém aumentaram os níveis de atividade da fosfatase alcalina, aumentando a formação de nódulos mineralizados.

SHAHI *et al.* (2010) avaliaram o efeito do MTA cinza, MTA branco, cimento Portland cinza e cimento Portland branco em tecido subcutâneo de ratos. Os cimentos foram manipulados, inseridos em tubos de polietileno e implantados no dorso dos animais. Tubos vazios implantados foram utilizados como controle. Os períodos avaliados foram de 7, 15, 30, 60 e 90 dias após a implantação. Após o processamento histológico os cortes foram analisados e atribuídos escores conforme a severidade do processo inflamatório: grau 0 - para

ausência de células inflamatórias, grau I - presença esporádica de células inflamatórias, grau II – moderada inflamação (< 25 células), grau III – denso infiltrado inflamatório (25-125 células) e grau IV – inflamação intensa e severa (> 125 células). Os resultados demonstraram que após 7 e 15 dias todos os grupos apresentaram inflamação grau III, havendo uma diminuição da intensidade nos períodos de 30, 60 e 90 dias. Aos 90 dias, o MTA cinza, MTA branco e o controle apresentaram grau 0 de inflamação, porém os cimentos Portland cinza e branco apresentaram de grau 0 a I. Concluíram que os cimentos MTA cinza e branco são mais biocompatíveis que os cimentos Portland cinza e branco, entretanto sugerem mais estudos.

ZEFERINO *et al.* (2010) avaliou se o MTA e o cimento Portland branco com 15% de óxido de bismuto têm a capacidade de induzirem danos genéticos e morte celular. Foram utilizadas culturas de fibroblastos (linhagem 3T3-L1). Os materiais testados foram preparados a uma concentração de 10 a 1000 $\mu g\ mL^{-1}$. As células foram expostas aos materiais por 3 horas. Como controle negativo foi utilizado PBS (phosphate buffer solution) por 3 horas e como controle positivo solução de MMS (methyl metasulphonate) por 1 hora. Foram feitos os testes de citotoxicidade e genotoxicidade. Os resultados demonstraram que o MTA e o cimento Portland com óxido de bismuto não produziram efeitos genotóxicos ou citotóxicos.

GOMES CORNÉLIO *et al.* (2011) verificaram a citotoxicidade do cimento Portland puro e associado a diferentes agentes radiopacificadores, entre eles o óxido de bismuto, óxido de zircônio e tungstato de cálcio em dois tipos de linhagens celulares (periodontais e osteogênicas). As células foram expostas durante um período de 24 horas a concentrações de cimento Portland puro e com diferentes agentes radiopacificadores adicionados à sua composição. Foram analisados viabilidade, morfologia e mecanismo de morte celular. Os resultados demonstraram que apenas houve morte celular quando as células foram expostas a altas concentrações dos cimentos. O cimento Portland puro não apresentou efeito citotóxico às células mesmo quando expostas à alta concentração deste cimento. Nenhuma das variações de cimento Portland com agentes radiopacificadores resultaram em danos celulares. Os cimentos promoveram morte celular apenas em altas concentrações.

3 Proposição

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo do estudo foi avaliar a radiopacidade e a resposta do tecido subcutâneo de ratos frente à implantação, com tubos de polietileno, de cimento Portland puro acrescido de diferentes concentrações, em peso, de óxido de bismuto como radiopacificador (15%, 20%, 30% e 50%) e Portland puro como controle.

4 Material e Métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Materiais utilizados

Cimento Portland branco puro (Irajazinho, Cimentos Rio Branco AS, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e acrescido de óxido de bismuto (Bi_2O_3) (Merck, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) nas concentrações de 15, 20, 30 e 50% em peso.

4.2. Preparo dos cimentos

Para o preparo de cada variável de cimento foi feita a pesagem do cimento Portland e do radiopacificador, óxido de bismuto, em balança analítica eletrônica de precisão (Gehaka AND-GR-202, Tóquio, Japão), seguindo as proporções de cada grupo (15, 20, 30 e 50%). A manipulação dos cimentos para os testes de radiopacidade e resposta tecidual foi realizada seguindo a proporção de 0,4 mL de água destilada para 1g de pó.

4.3. Análise da radiopacidade

Para o teste da radiopacidade, foram utilizados anéis metálicos com 10 mm de diâmetro e 1 mm de espessura para a confecção de corpos de prova com os cimentos testados: cimento Portland puro, cimento Portland com óxido de bismuto nas concentrações de 15, 20, 30 e 50% em peso (Figura 1).

Foram confeccionados três corpos de prova para cada material. Os cimentos recém espatulados foram inseridos nos anéis sobre uma placa de vidro revestida com filme plástico. Outra placa foi colocada sobre os anéis comprimindo-os para planificar as superfícies dos corpos de prova. O conjunto foi mantido em estufa a 37°C e 100% de umidade. Após a presa dos cimentos, as placas foram removidas e as espessuras dos corpos de prova conferidas com paquímetro. Os corpos de prova que apresentavam excesso de cimento foram lixados com lixa d'água de granulação 600 e foram dispostos de maneira aleatória sobre filme oclusal insight (Kodak Insight Speed E, Eastman Kodak Company, Rochester, EUA), sendo esta disposição anotada (Figura 2A). Juntamente com os corpos de prova uma escala de alumínio (penetrômetro de alumínio) foi disposta sobre o filme para permitir a

análise da densidade radiográfica (Figura 3). Essa escala era composta de 8 passos de alumínio, com comprimento total de 16 mm e variações de espessura de 2 mm (Figura 3). Os filmes foram sensibilizados utilizando-se aparelho de raios X (Spectro 70X Eletronic, Dabi Atlante, Ribeirão Preto, Brasil), com kilovoltagem de 70 kV, miliamperagem de 10 mA, tempo de exposição de 0,2 segundos e distância foco/filme de 40 cm (Figuras 2B).

Figura 1 - Anéis metálicos utilizados no teste de radiopacidade.

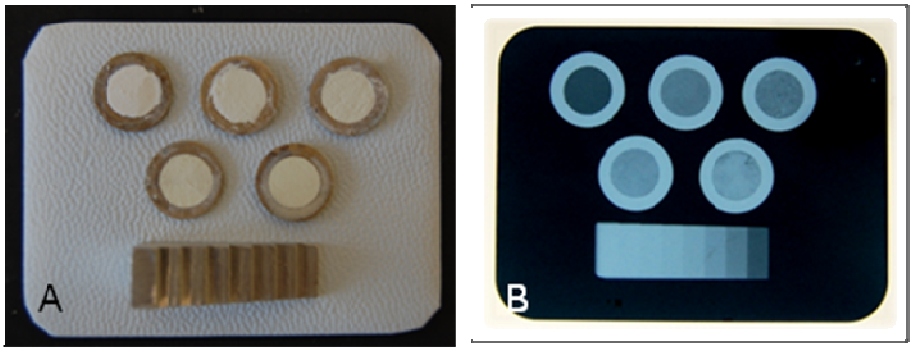

Figura 2 – (A) Corpos de prova dispostos de maneira aleatória sobre filme oclusal, juntamente com a escala de alumínio. (B) Imagem radiográfica.

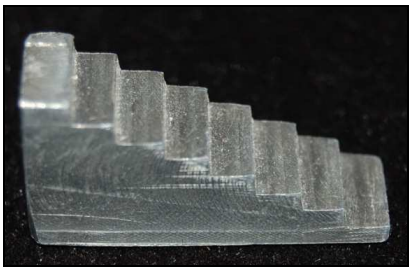

Figura 3 – Escala de alumínio.

As radiografias foram processadas manualmente em solução reveladora e fixadora (Kodak do Brasil, São José dos Campos, São Paulo, Brasil), pelo método tempo/temperatura, em câmara escura portátil. As radiografias processadas foram digitalizadas com auxílio de câmera digital (Nikon D40, Tóquio, Japão). As imagens foram analisadas no programa Digora

1.51 (Soredex, Tuusula, Finlândia) para determinação da densidade radiográfica. As leituras foram feitas por um operador que não tinha conhecimento da disposição dos materiais no filme. A densidade radiográfica da escala de alumínio foi determinada para cada radiografia, calibrando-se assim as leituras. Foram feitas leituras da densidade radiográfica em 3 pontos de cada corpo de prova, sendo os valores convertidos em milímetros de alumínio (mmAl) por meio de uma fórmula e escala referente a valores da escala de alumínio calibrada para cada filme, de acordo com DUARTE *et al.* (2009), especificado nos esquemas abaixo:

$$\frac{DRM - DRPAA \times 2}{DRPAS - DRPAA} + \text{passo de mmAl abaixo do valor} = \text{radiopacidade em mmAl}$$

DRM – Densidade radiográfica do material
DRPAA – Densidade radiográfica do passo de alumínio abaixo
DRPAS – Densidade radiográfica do passo de alumínio superior

Escala de alumínio (exemplo):

Passo de alumínio	**Densidade de cada passo no Filme 1**
0	20.31
2	56.71
4	81,93
6	97.52
8	108.45
10	115.48
12	118.39
14	120.17
16	122.82

Os valores em mm de Al dos materiais foram comparados entre si pelo ANOVA (Análise de Variância) a 1 critério para comparação global e teste de Tukey-Kramer para os confrontos individuais, com nível de significância de 5%.

4.4. Análise da reação tecidual

Para o desenvolvimento dessa análise foram utilizados 81 ratos machos adultos jovens (*Rattus norvegicus*, *albinus*, Wistar), com massa corporal ao redor de 300g, oriundos do Biotério da Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo. O projeto foi inicialmente submetido ao Comitê de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais, tendo sido aprovado em 14 de julho de 2009, CEEPA - Protocolo nº 06/2009 (Anexo A).

Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas coletivas higienizadas, com 5 animais por gaiola, mantidos em temperatura ambiente e alimentados com ração sólida comercial balanceada e água *ad libitum.*

4.4.1. Delineamento experimental

Os animais foram divididos em cinco grupos para cada período de 15, 30 e 60 dias, sendo 06 animais para cada grupo experimental e 03 para o controle, totalizando 27 ratos por período (Tabela 1).

Tabela 1 – Distribuição dos animais em relação aos materiais e grupos.

Grupo	Material	Nº de animais
I	Portland puro	3
II	Portland + 15% de óxido de bismuto	6
III	Portland + 20% de óxido de bismuto	6
IV	Portland + 30% de óxido de bismuto	6
V	Portland + 50% de óxido de bismuto	6

4.4.2. Materiais implantados

Foram utilizados 162 tubos de polietileno com 1,5 mm de diâmetro interno, 2,0 mm de diâmetro total e 10,0 mm de comprimento (Vesimed, Londrina, Paraná, Brasil). Os tubos foram previamente esterilizados com óxido de etileno. Os cimentos foram manipulados

durante o procedimento cirúrgico e inseridos no interior dos tubos antes de serem implantados (Figura 4A e B). Cada animal recebeu dois implantes do mesmo material.

4.4.3. Procedimentos cirúrgicos

Os animais foram anestesiados com associação de cloridrato de Ketamina (Dopalen), solução anestésica, e cloridrato de xilasina (Anasedan), solução sedativa e relaxante muscular, por via intramuscular na face posterior da coxa, na dosagem de 0,05 mL/100g de peso animal para cada substância citada.

Após a anestesia, foi realizada a tricotomia da região dorsal dos animais e anti-sepsia com álcool iodado a 1% (Figura 5A e B). Em seguida foi realizada uma incisão longitudinal na região mediana do dorso de cada animal, com uma lâmina de bisturi nº 15 (Figura 5C e D). O tecido cutâneo foi pinçado e uma pequena divulsão foi realizada com tesoura de ponta romba. Em seguida, cada tubo de polietileno, preenchido com o material em teste, foi colocado dentro da ponta de um trocarte com o tubo inserido na ponta (Figura 5E). Este foi levado até atingir uma profundidade aproximada de 18 mm, completando a divulsão dos tecidos. Cada animal recebeu dois corpos de prova, sendo que ambos continham o mesmo cimento. Tomou-se o cuidado de depositar os implantes distantes da incisão, para evitar a sua expulsão durante a mobilidade do animal (Figura 5F). As bordas das incisões foram suturadas com fio de seda 4.0. Os ratos foram identificados com marcações nas suas orelhas, utilizando o perfurador de dique de borracha Ainsworth (Golgran Indústria e Comércio de Instrumental Odontológico, São Paulo, SP, Brasil).

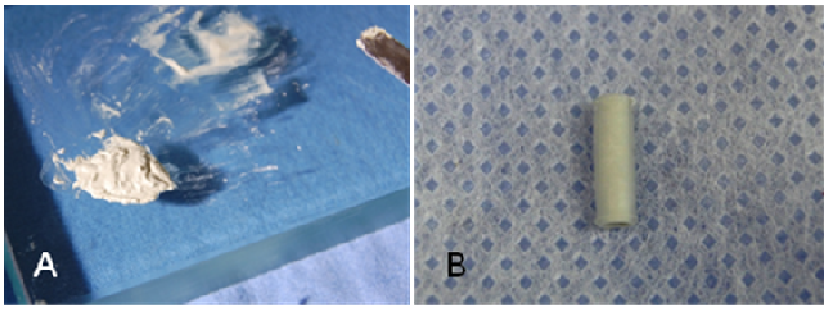

Figura 4 – (A) Cimento espatulado durante o procedimento cirúrgico.
(B) Tubo de polietileno preenchido com o cimento recém-espatulado.

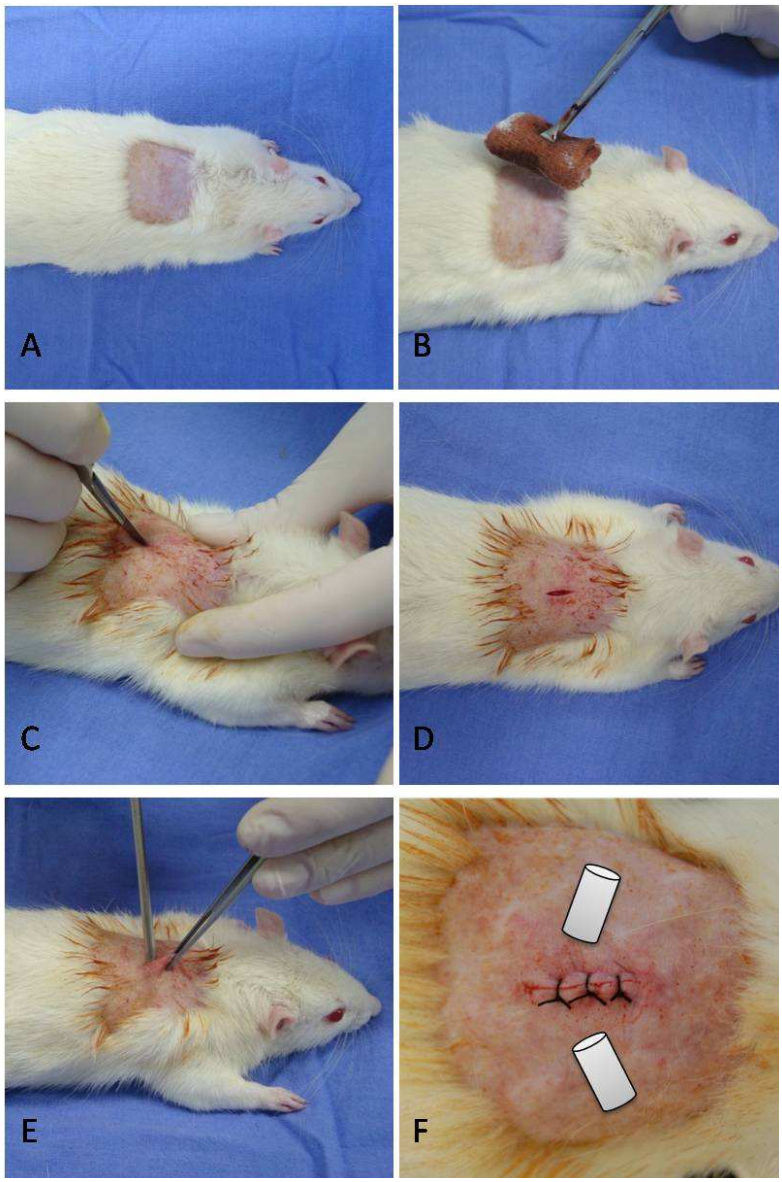

Figura 5 – (A) Tricotomia da região dorsal. (B) Anti-sepsia com álcool iodado a 1%.
(C, D) Incisão longitudinal na região mediana com lâmina de bisturi nº 15.
(E) Inserção do tubo de polietileno na região dorsal do rato com auxílio de trocarte.
(F) Esquema da localização dos tubos na região dorsal do animal.

4.4.4. Obtenção das amostras

Após os períodos experimentais de 15, 30 e 60 dias, os animais foram anestesiados e novamente depilados na região dorsal. A seguir, foram anestesiados e em seguida mortos com uma dose da associação de cloridrato de ketamina e cloridrato de xilasina injetada diretamente no coração. Logo em seguida, os corpos de prova foram localizados por palpação, e a área do implante incisada e dissecada, abrangendo suficiente tecido normal circunjacente (Figura 6). Os segmentos de tecido contendo os implantes foram distendidos em papel cartão e imersos, para fixação, em solução de formol a 10% tamponado, em frascos unitários, com identificação do animal, material e período experimental.

4.5. Processamento laboratorial

Os tecidos permaneceram por um período de sete dias na solução de formol. Posteriormente, foram realizadas lavagens das amostras em água corrente por 24 horas. Em seguida, eliminou-se o tecido adjacente em excesso com auxílio de navalhas para micrótomo, deixando a amostra com um formato retangular e tecido circunjacente ao implante, suficiente para a realização da avaliação microscópica. Em seguida procedeu-se a remoção dos tubos aderidos à superfície do tecido subcutâneo e envolvidos por tecido neo-formado à guisa de cápsula. Primeiramente, foi executada uma incisão de modo firme e cuidadoso, longitudinalmente em um dos lados do implante, com auxílio de uma lâmina de bisturi n° 15, sem atingir as extremidades dos tubos, criando um espaço por onde se introduziu cuidadosamente uma sonda interproximal nº1, para desprender e remover o tubo de polietileno sem dilacerar o tecido neo-formado de formato tubular. Finalmente, as amostras de tecido, identificados, foram colocadas em pequenos frascos com álcool para o processo de desidratação, dando início à sequência dos procedimentos histotécnicos.

As amostras foram incluídas em blocos de Histosec (parafina + resina sintética) e identificadas. Em seguida os blocos foram submetidos à microtomia semi-seriada, executando cortes de 5 µm de espessura no sentido longitudinal da estrutura tecidual tubular. Foram montadas 3 lâminas por animal, contendo de 3 a 4 cortes por lâmina. Os cortes foram corados com Hematoxilina e Eosina.

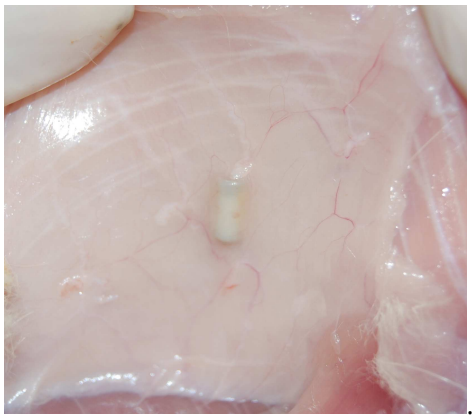

Figura 6 – Remoção do tecido contendo os tubos implantados.

4.6. Microscopia

A análise da reação do tecido subcutâneo compreendeu o exame microscópico do tecido neoformado nas extremidades do tubo implantado, que se desenvolveu em contato com os cimentos analisados (Figura 7). Essa análise foi feita de maneira descritiva e quantitativa com o auxílio de um fotomicroscópio óptico (Aristoplan Leitz, Alemanha).

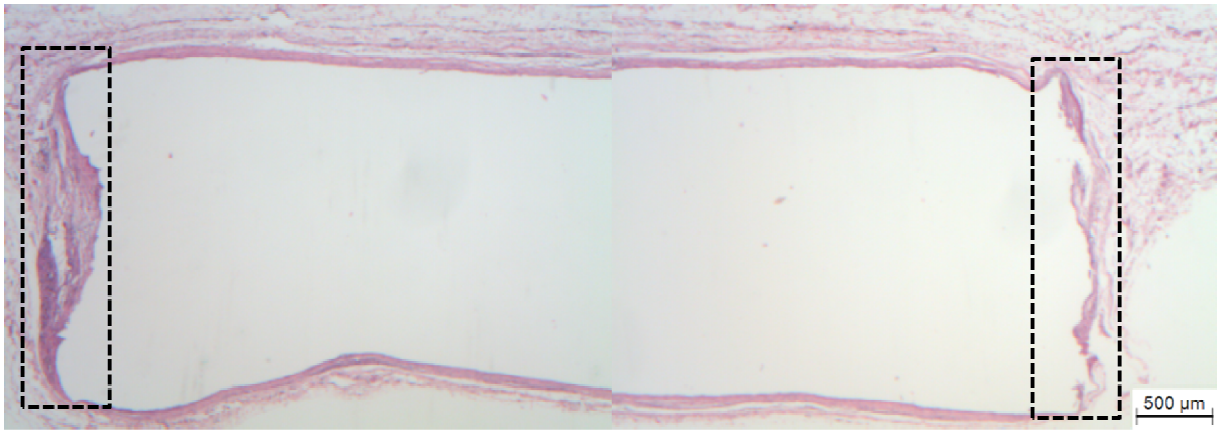

Figura 7 – Cortes histológicos, em aumento 40×, representativos de tecido neoformado envolvendo o tubo implantado. Destaque das extremidades analisadas.

4.6.1. Análise microscópica descritiva

O tecido neo-formado nas extremidades dos tubos implantados, foi descrito de modo corrente, destacando os fenômenos microscópicos vinculados à reação tecidual frente ao material testado.

4.6.2. Análise microscópica quantitativa

Esta análise foi executada tendo por parâmetro dois critérios: células inflamatórias e fenômeno reparatório. Para a quantificação das células inflamatórias foi utilizada a objetiva de aumento 40× e ocular de aumento 10×.

Foram analisados 30 campos microscópicos, para cada espécime, na extremidade do tubo implantado, atribuindo escores variando de 0 a 3, seguindo-se um padrão estabelecido por VOSOUGHHOSSEINI *et al.* (2008):

0 – Ausência de células inflamatórias

1 – Leve (infiltração de células inflamatórias <25 células)

2 – Moderada (infiltração de células inflamatórias entre 25-125 células)

3 – Severa (infiltração de células inflamatórias >125 células)

Ao final da análise dos 30 campos para cada espécime, foi calculado o valor médio.

O fenômeno reparatório foi quantificado de modo subjetivo pela atribuição de escores, variando de 0 a 3, tomando por base o amadurecimento do tecido neoformado na extremidade do tubo implantado, isto é, a formação do tecido fibrocelular:

0 – Ausência de tecido fibrocelular. Não há formação de fibras colágenas;

1 – Presença discreta de tecido fibrocelular. Pequenas áreas de fibras colágenas esparsas;

2 – Presença moderada de tecido fibrocelular. Grandes áreas de fibras colágenas distribuídas irregularmente;

3 – Presença marcante de tecido fibrocelular. Predominância de fibras colágenas, assumindo aspecto capsular.

4.7. Tratamento estatístico dos dados

A análise estatística foi realizada utilizando-se os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e Dunn, dentro de um nível de significância de 5%. A ausência de distribuição normal foi confirmada pelo teste de D'Agostino & Pearson.

5 Resultados

5 RESULTADOS

5.1. Radiopacidade

Os valores correspondentes à média e desvio padrão da radiopacidade em milímetros de alumínio são apresentados na Tabela 2 e Gráfico 1.

Tabela 2 – Média e desvio padrão da radiopacidade em mmAl dos materiais estudados. As diferenças estatísticas significantes estão representadas pelas letras diferentes sobrescritas (p<0,05).

Grupo	Média (mmAl)	Desvio padrão
I (Puro)	1,73[a]	0,06
II (15%)	3,65[ab]	0,40
III (20%)	3,82[ab]	0,27
IV (30%)	5,94[b]	0,40
V (50%)	8,66[c]	1,65

Com exceção do cimento Portland, os demais materiais apresentaram radiopacidade acima do mínimo recomendado pelas normas da ADA nº 57 e ISO 6876/2001, que é de 3 mmAl. A maior radiopacidade foi verificada no cimento Portland com 50% de óxido de bismuto (grupo V), enquanto o cimento Portland puro (grupo I) apresentou a menor radiopacidade. Na comparação estatística, houve diferença significante entre o cimento Portland com 50% de óxido de bismuto (grupo V) e os demais cimentos avaliados, e entre o cimento Portland puro (grupo I) e o cimento Portland com 30% de óxido de bismuto (grupo IV) (p<0,05). Nos demais confrontos não houve diferença estatisticamente significante (p>0,05).

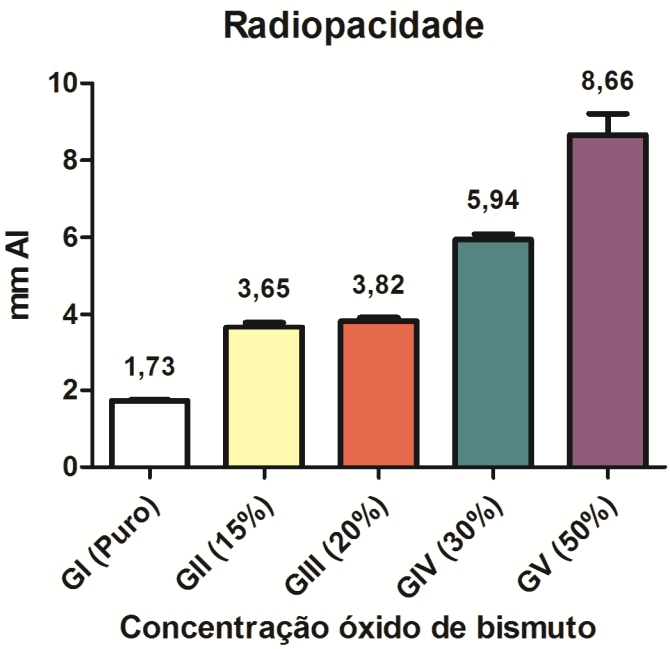

Gráfico 1 – Média e desvio padrão da radiopacidade do cimento Portland com as diferentes concentrações de óxido de bismuto avaliadas.

5.2. Análise microscópica descritiva

5.2.1. Período de 15 dias

A microscopia dos espécimes representativos dos respectivos grupos e períodos estudados, revelou a neo-formação de tecido conjuntivo, que envolveu o tubo implantado. E a análise dos fenômenos microscópicos de interesse foi desenvolvida no segmento tecidual correspondente às extremidades do referido tubo.

5.2.1.1. Cimento Portland puro (grupo I)

Neoformação de tecido conjuntivo com ativa proliferação fibroangioblástica, infiltrado inflamatório crônico predominantemente macrofágico (Figura 8A), e na superfície, em contato com o cimento testado, mostrava pequenas áreas de aspecto eosinofílico e amorfo compatíveis com focos necróticos. Ocorreu ainda, a presença de células gigantes multinucleares esparsas.

5.2.1.2. Cimento Portland com 15% de óxido de bismuto (grupo II)

Tecido conjuntivo neo-formado com ativa proliferação fibroangioblástica. Alguns espécimes exibiam uma estrutura amorfa de aspecto eosinofílico em contato com o material testado, bem como pequenos focos de coloração negra, distribuídos irregularmente e fagocitados por macrófagos e células gigantes multinucleadas (Figura 8B). O tecido conjuntivo neoformado já demonstrava algum grau de organização com presença de tecido fibrocelular principalmente na superfície em contato com o material testado. Havia a presença ainda, de um infiltrado inflamatório crônico moderado caracterizado pela presença predominante de macrófagos e discreta de linfócitos. Observou-se ainda a presença de polimorfonucleares eosinófilos esparsos.

5.2.1.3. Cimento Portland com 20% de óxido de bismuto (grupo III)

Faixa de tecido conjuntivo neoformado com proliferação fibroangioblástica, em fase de organização, com algumas áreas, exibindo tecido fibrocelular. Há um moderado infiltrado inflamatório crônico composto predominantemente por macrófagos, células gigantes multinucleadas, tendo de permeio linfócitos e polimorfonucleares eosinófilos esparsos (Figura 8C). Alguns cortes exibiam pequenos focos esparsos de coloração negra, compatíveis com o cimento testado, fagocitados pelos macrófagos mononucleados e multinucleados.

5.2.1.4. Cimento Portland com 30% de óxido de bismuto (grupo IV)

Tecido conjuntivo neo-formado com ativa proliferação fibroangioblástica, moderado infiltrado inflamatório crônico do tipo linfohistiocitário. Em alguns pontos ocorre a presença de áreas com aspecto eosinofílico e amorfo sugerindo foco necrótico contornado por infiltrado inflamatório crônico. Ocorre ainda a presença discreta de células gigantes multinucleadas e focos esparsos de coloração negra, sugerindo resquícios do material implantado e fagocitados pelos macrófagos mono e multinucleados (Figura 8D).

5.2.1.5. Cimento Portland com 50% de óxido de bismuto (grupo V)

Tecido conjuntivo neoformado, espesso, com áreas do tipo fibrocelular, exibindo na superfície em contato direto com o cimento testado, focos de material de aspecto eosinofílico, amorfo, com restos celulares, compatível com estrutura necrótica. Essa faixa de tecido exibe uma ativa proliferação fibroangioblástica, tendo de permeio um infiltrado inflamatório crônico intenso do tipo linfohistiocitário com predominância das células macrofágicas mononucleares. Observa-se ainda a presença de células gigantes multinucleadas em processo de fagocitose e pequenas estruturas de coloração negra sugestivas de material implantado (Figura 8E e F).

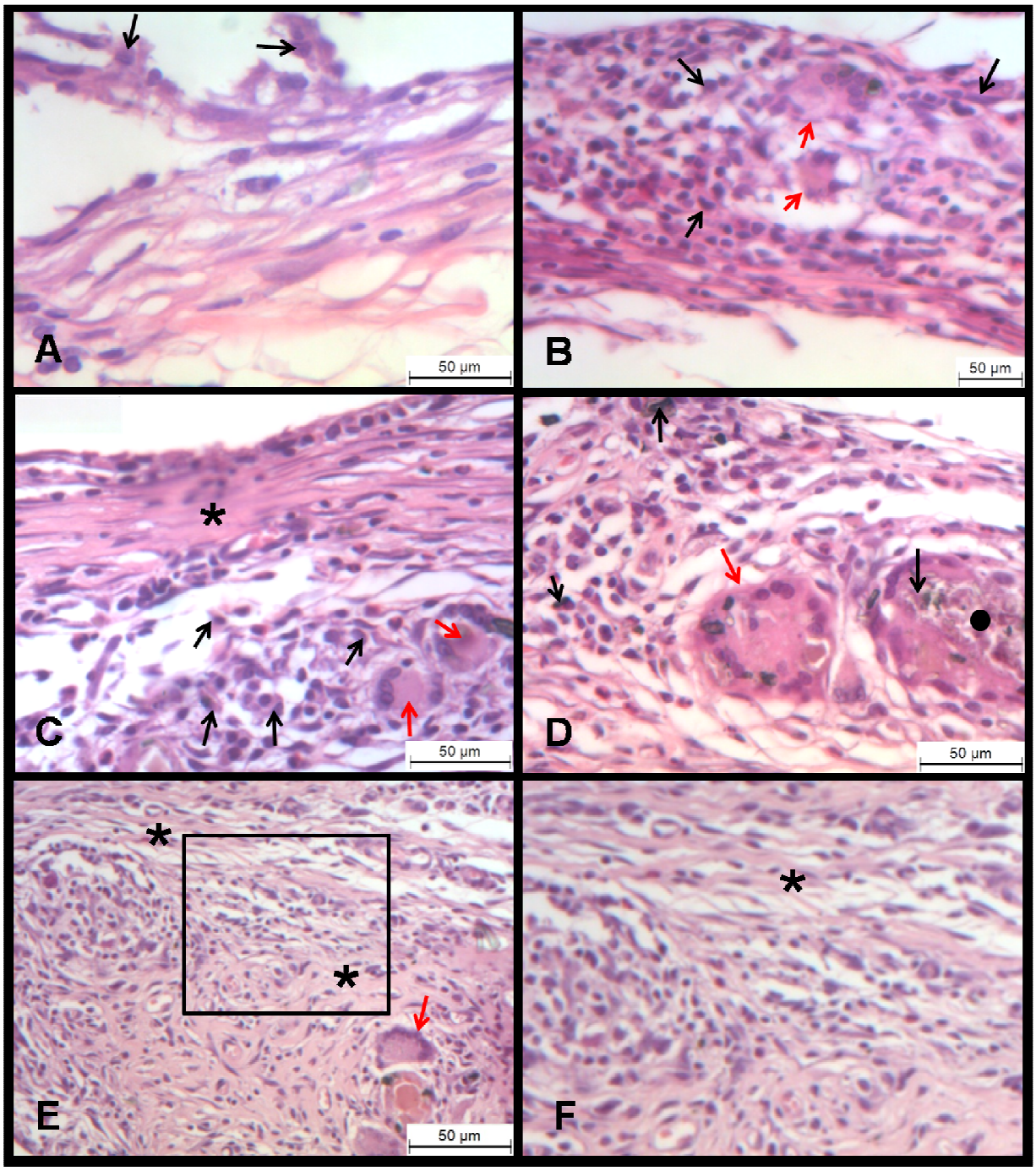

Figura 8 – Cortes histológicos representativos dos grupos no período de 15 dias. Aumento de 40×. (A) Grupo I (0%). Proliferação fibroangioblástica e células macrofágicas (*seta preta*), (B) Grupo II (15%). Infiltrado inflamatório crônico macrofágico: macrófagos (*seta preta*) e células gigantes (*seta vermelha*), (C) Grupo III (20%). Infiltrado inflamatório crônico macrofágico: macrófagos (seta preta) e células gigantes multinucleadas (*seta vermelha*). Tecido fibrocelular (*asterisco*), (D) Grupo IV (30%). Infiltrado inflamatório crônico macrofágico: macrófagos (*seta preta*) e células gigantes multinucleadas (*seta vermelha*) com material de coloração negra fagocitado. Material necrótico (*ponto preto*), (E) Grupo V (50%). Tecido fibrocelular (*asterisco*), infiltrado inflamatório crônico macrofágico e células gigantes multinucleadas (*seta vermelha*), (F) Ampliação da área demarcada na imagem E. Tecido fibrocelular (*asterisco*).

5.2.2. Período de 30 dias

5.2.2.1. Cimento Portland puro (grupo I)

Tecido conjuntivo neoformado denso e vascularizado. Este tecido está constituído por uma proliferação de fibroblastos e vasos sanguíneos, tendo de permeio tecido fibrocelular (Figura 9A). Observou-se ainda a presença de um infiltrado inflamatório crônico com predominância de macrófagos mononucleados, ocorrendo ainda a presença discreta de células linfocitárias e polimorfonucleares eosinófilos esparsos.

5.2.2.2. Cimento Portland com 15% de óxido de bismuto (grupo II)

Presença de tecido conjuntivo denso, organizado, com fibroblastos, vasos sanguíneos e tecido fibrocelular. A presença de células inflamatórias do tipo crônica estava fundamentada na presença moderada de macrófagos, geralmente concentrados na porção periférica, em contato com a superfície do cimento implantado (Figura 9B). Observou-se, ainda, a presença esparsa de um ou outro polimorfonucleares eosinófilos bem como linfócitos.

5.2.2.3. Cimento Portland com 20% de óxido de bismuto (grupo III)

Tecido conjuntivo neoformado de aspecto denso e organizado com produção de tecido fibrocelular (Figura 9C), pontos de coloração negra esparsos sugestivos de material implantado, um ou outro polimorfonucleares eosinófilos e neutrófilos. Na porção logo abaixo, esta faixa de tecido assume um aspecto mais frouxo com ativa proliferação fibroangioblástica, presença de macrófagos, células gigantes multinucleares esparsas em processo de fagocitose dos referidos pontos de coloração negra.

5.2.2.4. Cimento Portland com 30% de óxido de bismuto (grupo IV)

Tecido conjuntivo denso, organizado, com presença marcante de tecido fibrocelular e alguns fibroblastos. Na superfície em contato direto com o cimento implantado, ocorre concentração de células macrofágicas mononucleares (Figura 9D e F).

5.2.2.5. Cimento Portland com 50% de óxido de bismuto (grupo V)

Presença de tecido conjuntivo bem celularizado, de pouca espessura, com algumas áreas de tecido fibrocelular, exibindo na superfície em contato com o material, células macrofágicas mononucleares, pequenos focos de material de coloração eosinofílica e amorfa, sugestivos de material necrótico e pontos de coloração negra compatíveis com o material implantado (Figura 9E).

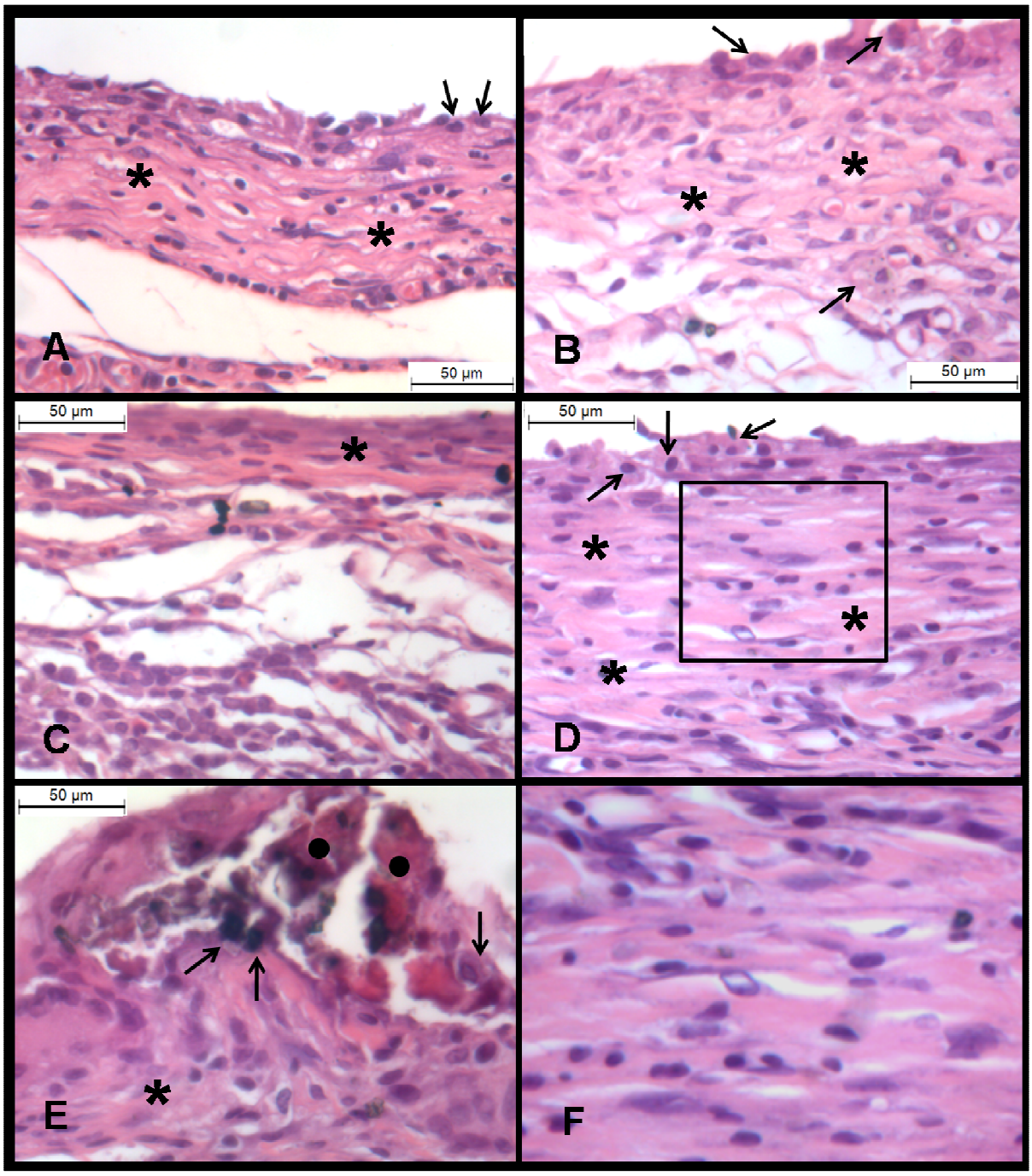

Figura 9 – Cortes histológicos representativos dos grupos no período de 30 dias. Aumento de 40×. (A) Grupo I (0%). Tecido fibrocelular (*asterisco*) e macrófagos (*seta preta*), (B) Grupo II (15%). Tecido fibrocelular (*asterisco*) e macrófagos (*seta preta*), (C) Grupo III (20%). Tecido fibrocelular (*asterisco*) e macrófagos (*seta preta*), (D) Grupo IV (30%). Tecido fibrocelular (*asterisco*) e macrófagos (*seta preta*), (E) Grupo V (50%). Tecido fibrocelular (*asterisco*), macrófagos (*seta preta*) e material necrótico (*ponto preto*), (F) Ampliação da área de tecido fibrocelular demarcada na imagem D.

5.2.3. Período de 60 dias

5.2.3.1. Cimento Portland puro (grupo I)

Faixa de tecido conjuntivo estreita com características de cápsula fibrosa. A estrutura deste tecido era predominantemente formada por tecido fibrocelular com células macrofágicas, dispostas principalmente na superfície voltada para o cimento implantado (Figura 10A e B). A vascularização era discreta.

5.2.3.2. Cimento Portland com 15% de óxido de bismuto (grupo II)

Formação de uma faixa delgada de tecido conjuntivo que se apresentou, neste período, com aspecto organizado e maduro, formado pela presença marcante de tecido fibrocelular e poucos vasos sanguíneos (Figura 10C). Na intimidade deste tecido observou-se ainda, resquícios de material de aspecto eosinofílico e amorfo, sugestivo de material necrótico. Há ainda, pequenos focos esparsos de coloração negra sugerindo material implantado. A presença de células macrofágicas era moderada e os referidos pontos de coloração negra estavam fagocitados.

5.2.3.3. Cimento Portland com 20% de óxido de bismuto (grupo III)

Presença de uma faixa de tecido conjuntivo estreita, organizada e madura, caracterizada por uma formação proeminente de tecido fibrocelular e poucos vasos sanguíneos (Figura 10D). Esse tecido exibia, na superfície voltada para o cimento implantado, conglomerados de macrófagos e algumas células gigantes multinucleares esparsas. Alguns desses macrófagos exibiam vacúolo citoplasmático, indicando processo de fagocitose. Notou-se, ainda, de modo esparso, pequenos focos de coloração negra sugestivos de cimento implantado.

5.2.3.4. Cimento Portland com 30% de óxido de bismuto (grupo IV)

Faixa de tecido conjuntivo do tipo fibrocelular, exibindo conglomerado de células macrofágicas na superfície voltada para o material implantado. A presença de vasos sanguíneos era discreta. Em alguns cortes, observou-se pequenos focos esparsos de coloração negra fagocitados, compatíveis com o material implantado (Figura 10E). Alguns espécimes demonstraram material extravasado, exibindo focos de aspecto eosinofílico e amorfo, sugestivo de resquícios de material necrótico.

5.2.3.5. Cimento Portland com 50% de óxido de bismuto (grupo V)

Presença de faixa delgada de tecido fibrocelular de aspecto capsular (Figura 10F) com macrófagos, que se apresentam de modo moderado, principalmente na periferia voltada para o cimento implantado.

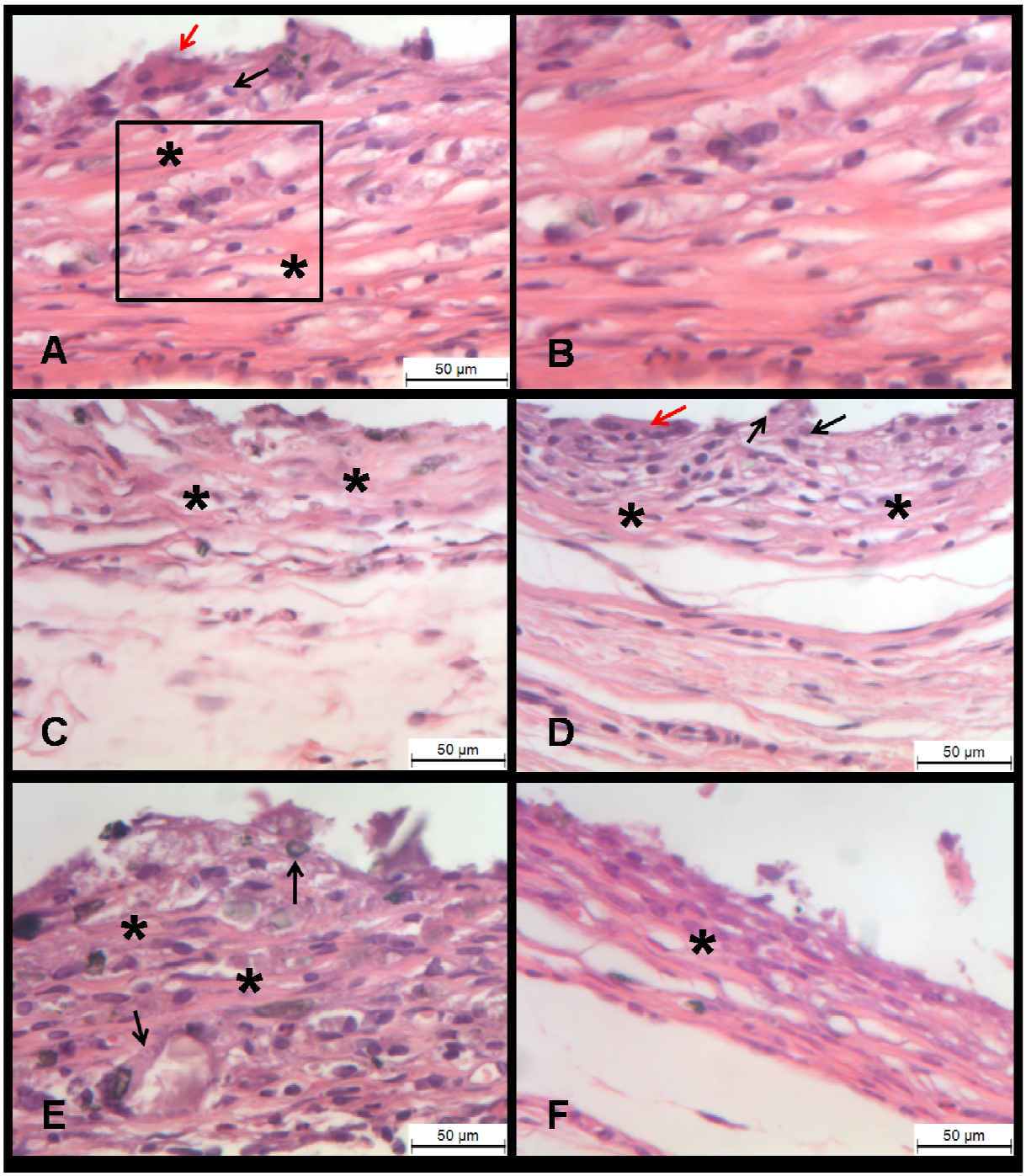

Figura 10 - Cortes histológicos representativos dos grupos no período de 60 dias. Aumento de 40×. (A) Grupo I (0%). Tecido fibrocelular (*asterisco*), macrófago (*seta preta*) e célula gigante multinucleada (*seta vermelha*), (B) Ampliação da área de tecido fibrocelular demarcada na imagem A, (C) Grupo II (15%). Tecido fibrocelular (*asterisco*), (D) Grupo III (20%). Tecido fibrocelular (*asterisco*), macrófago (*seta preta*) e célula gigante multinucleada (*seta vermelha*), (E) Grupo IV (30%). Tecido fibrocelular e macrófagos (*seta preta*), (F) Grupo V (50%). Tecido fibrocelular (*asterisco*).

5.3. Análise microscópica quantitativa

5.3.1. Células inflamatórias

A mediana e os valores mínimo e máximo, correspondentes à quantificação das células inflamatórias, em cada período avaliado, estão representados na Tabela 3 e Gráficos 2, 3, 4 e 5.

Tabela 3 – Mediana, valores mínimo e máximo para o infiltrado inflamatório observado nos períodos de 15, 30 e 60 dias. As letras minúsculas sobrescritas aos valores indicam as diferenças estatísticas significantes em cada coluna em relação aos grupos ($p<0,05$). As letras maiúsculas sobrescritas aos valores indicam as diferenças estatísticas significantes em cada linha em relação aos períodos ($p<0,05$).

Grupo	15 dias	30 dias	60 dias
I (Puro)	1,33 (1,03-1,43)^{aA}	1,25 (1,20-1,30)^{aA}	1,50 (1,00-1,56)^{aA}
II (15%)	1,83 (1,36-2,10)^{aA}	1,24 (0,96-1,56)^{aB}	1,25 (0,83-1,53)^{aB}
III (20%)	1,81 (1,16-2,20)^{aA}	1,26 (0,96-1,70)^{aA}	1,31 (0,90-1,53)^{aA}
IV (30%)	1,61 (0,83-2,13)^{aA}	1,51 (1,33-1,73)^{aA}	1,58 (1,26-1,80)^{aA}
V (50%)	1,73 (1,36-2,36)^{aA}	1,61 (1,23-2,23)^{aA}	1,31 (1,06-1,86)^{aA}

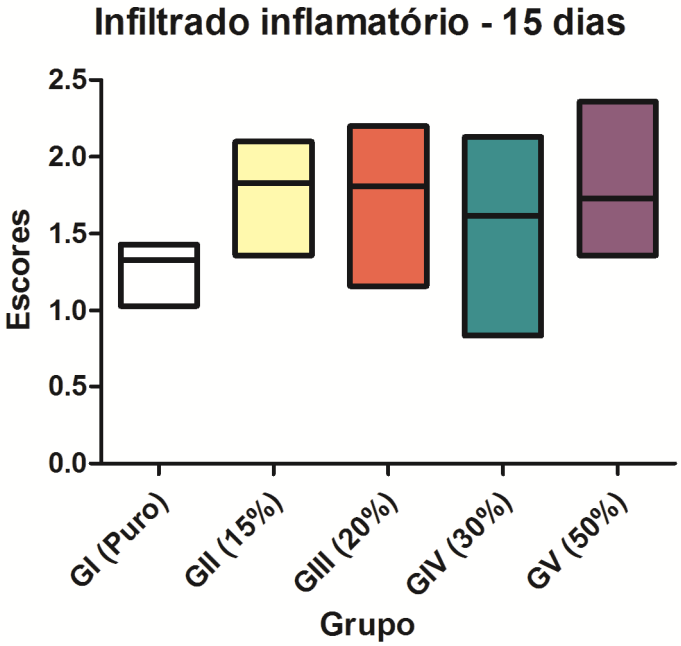

Gráfico 2 – Mediana, valores mínimo e máximo dos escores estabelecidos para a presença e intensidade do infiltrado inflamatório observado no período de 15 dias.

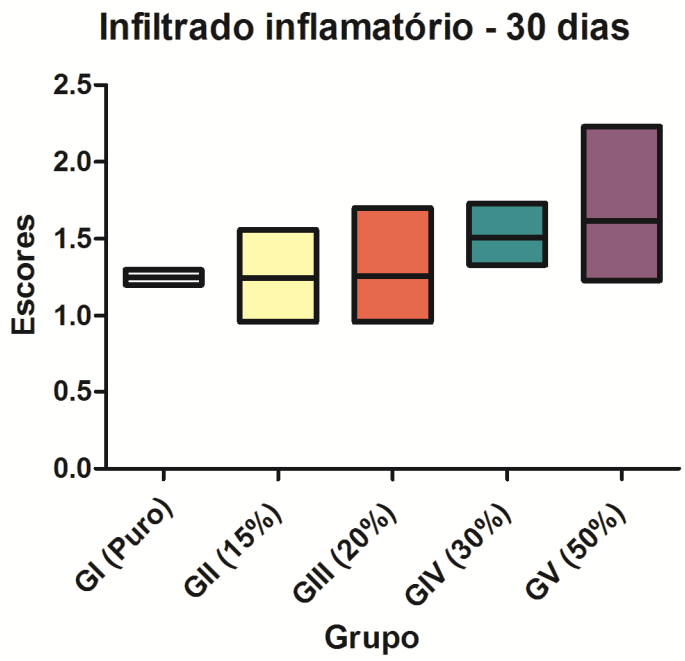

Gráfico 3 – Mediana, valores mínimo e máximo dos escores estabelecidos para a presença e intensidade do infiltrado inflamatório observado no período de 30 dias.

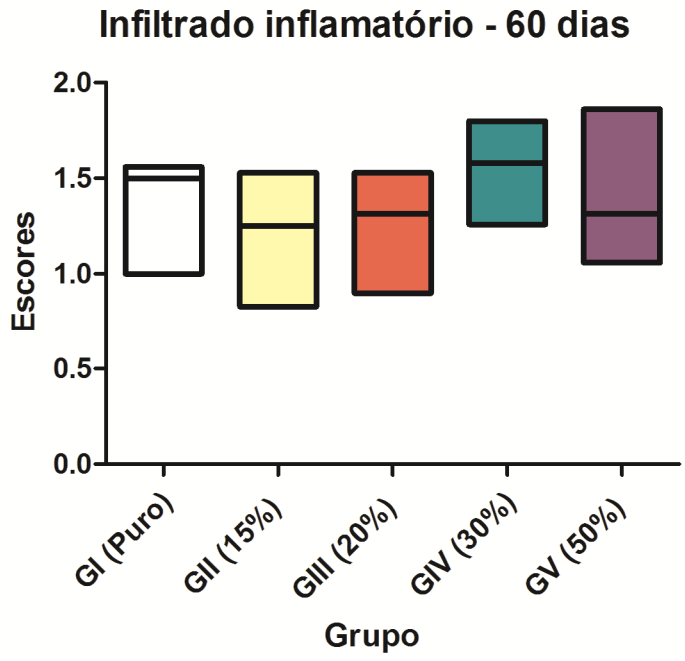

Gráfico 4 – Mediana, valores mínimo e máximo dos escores estabelecidos para a presença e intensidade do infiltrado inflamatório observado no período de 60 dias.

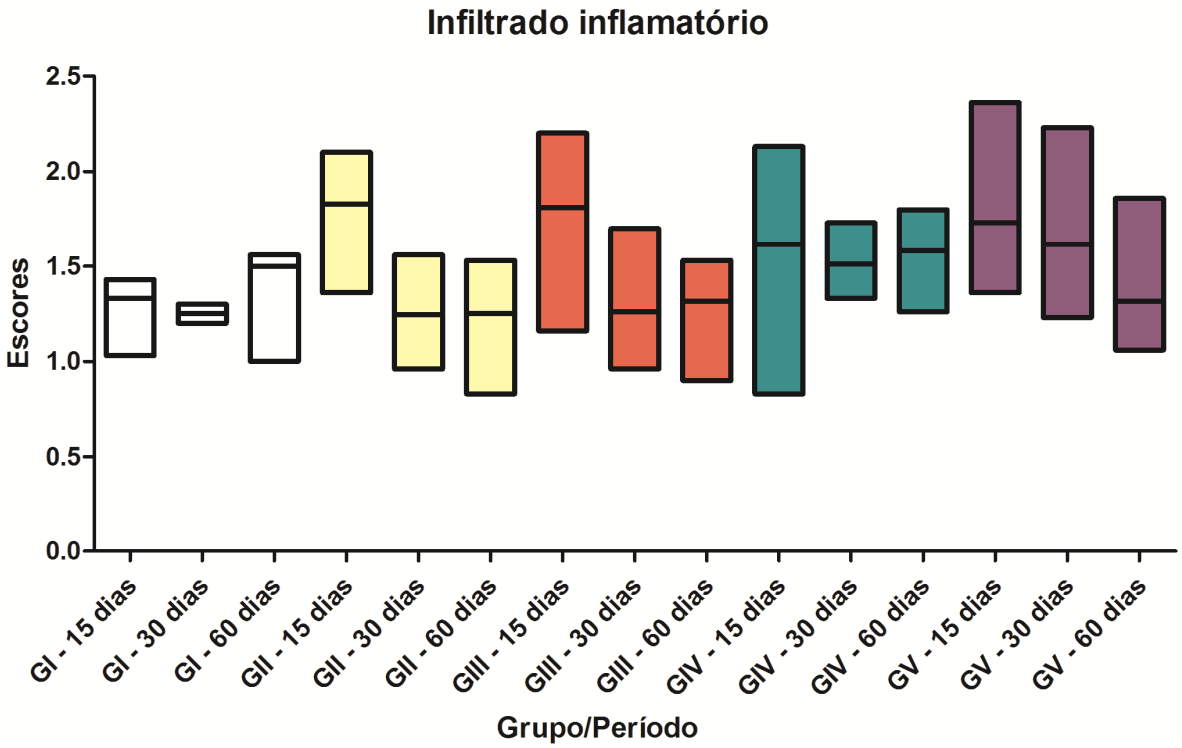

Gráfico 5 – Mediana, valores mínimo e máximo dos escores estabelecidos para a quantificação das células inflamatórias em todos os períodos avaliados.

No período de 15 dias (Tabela 3), o grupo II apresentou a maior mediana em relação aos escores estabelecidos para a quantidade de células inflamatórias (1,83), sendo ligeiramente superior ao observado para o grupo III (1,81). O menor valor observado ocorreu para o grupo I (1,33). O grupo IV apresentou um valor intermediário (1,61). Entretanto as diferenças verificadas entre os grupos não foram estatisticamente significantes ($p>0,05$).

No período de 30 dias (Tabela 3), verificou-se uma redução no valor da mediana para todos os grupos. Neste período, o grupo V apresentou o maior valor (1,61). O grupo II apresentou uma redução significativa em relação ao período de 15 dias ($p<0,05$), e no período de 30 dias apresentou o menor valor em relação aos demais grupos, sem, porém ser estatisticamente significante (1,24) ($p>0,05$). Os grupos I e III apresentaram valores próximos (1,25 e 1,26, respectivamente). Não foi verificada diferença estatística entre os grupos neste período ($p>0,05$).

No último período avaliado (60 dias), houve um discreto aumento na mediana para os grupos I, II, III e IV, sem, porém ser significativo em relação ao período de 30 dias (Tabela 3) ($p>0,05$). Apenas o grupo V apresentou uma redução em relação aos demais períodos sem, entretanto, ser significativo ($p>0,05$). O menor valor observado ocorreu no

grupo II (1,25), seguido dos grupos III e V que apresentaram o mesmo valor (1,31). O maior valor ocorreu para o grupo IV (1,58), porém, na comparação estatística entre os grupos, não foram verificadas diferenças neste período (p>0,05).

5.3.2. Fenômeno reparatório

A mediana e os valores mínimo e máximo, correspondentes aos escores estabelecidos para o fenômeno reparatório, em cada período avaliado, estão representados na Tabela 4 e nos Gráficos 6, 7, 8 e 9.

Tabela 4 – Mediana, valores mínimo e máximo para o fenômeno reparatório observado nos períodos de 15, 30 e 60 dias. As letras minúsculas sobrescritas aos valores indicam as diferenças estatísticas significantes em cada coluna em relação aos grupos (p<0,05). As letras maiúsculas sobrescritas aos valores indicam as diferenças estatísticas significantes em cada linha em relação aos períodos (p<0,05).

Grupo	15 dias	30 dias	60 dias
I (Puro)	1,0 (1,0-2,0)^{aA}	1,0 (1,0-2,0)^{abA}	3,0 (2,0-3,0)^{aB}
II (15%)	1,0 (0,0-2,0)^{aA}	1,0 (1,0-2,0)^{abA}	2,5 (2,0-3,0)^{aB}
III (20%)	1,0 (0,0-2,0)^{aA}	2,0 (1,0-2,0)^{abAB}	2,0 (2,0-3,0)^{aB}
IV (30%)	0,5 (0,0-2,0)^{aA}	2,5 (2,0-3,0)^{aB}	2,0 (2,0-3,0)^{aB}
V (50%)	0,5 (0,0-1,0)^{aA}	1,0 (1,0-2,0)^{bAB}	2,0 (1,0-3,0)^{aB}

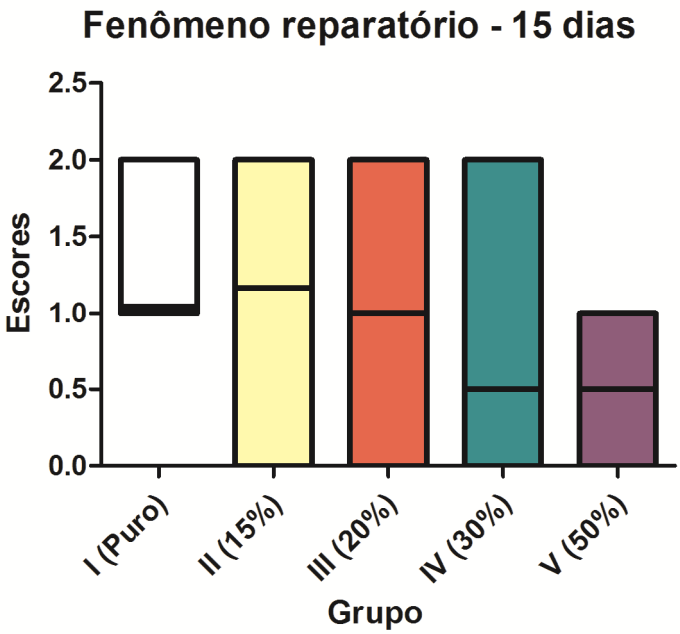

Gráfico 6 – Mediana, valores mínimo e máximo dos escores estabelecidos para o fenômeno reparatório observado para os grupos no período de 15 dias.

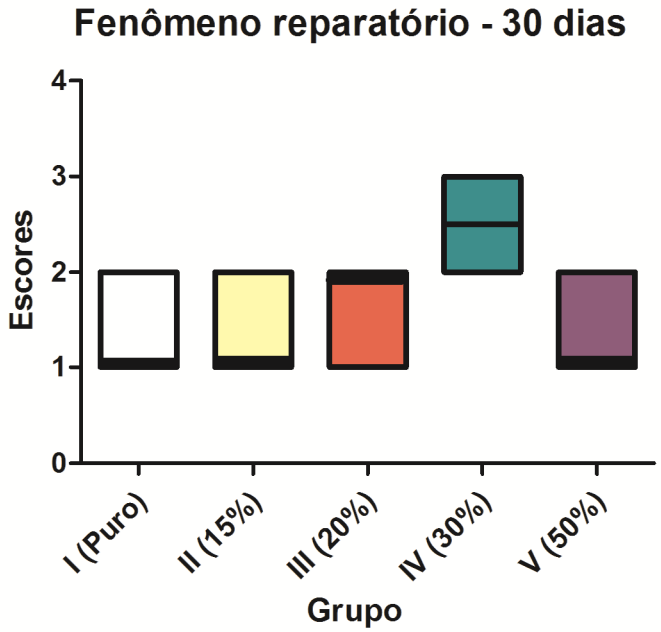

Gráfico 7 – Mediana, valores mínimo e máximo dos escores estabelecidos para o fenômeno reparatório observado para os grupos no período de 30 dias.

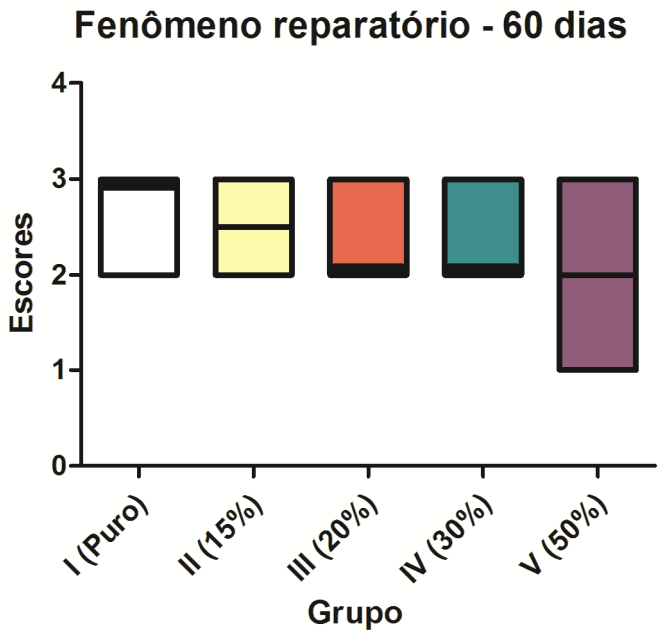

Gráfico 8 – Mediana, valores mínimo e máximo dos escores estabelecidos para o fenômeno reparatório observado para os grupos no período de 60 dias.

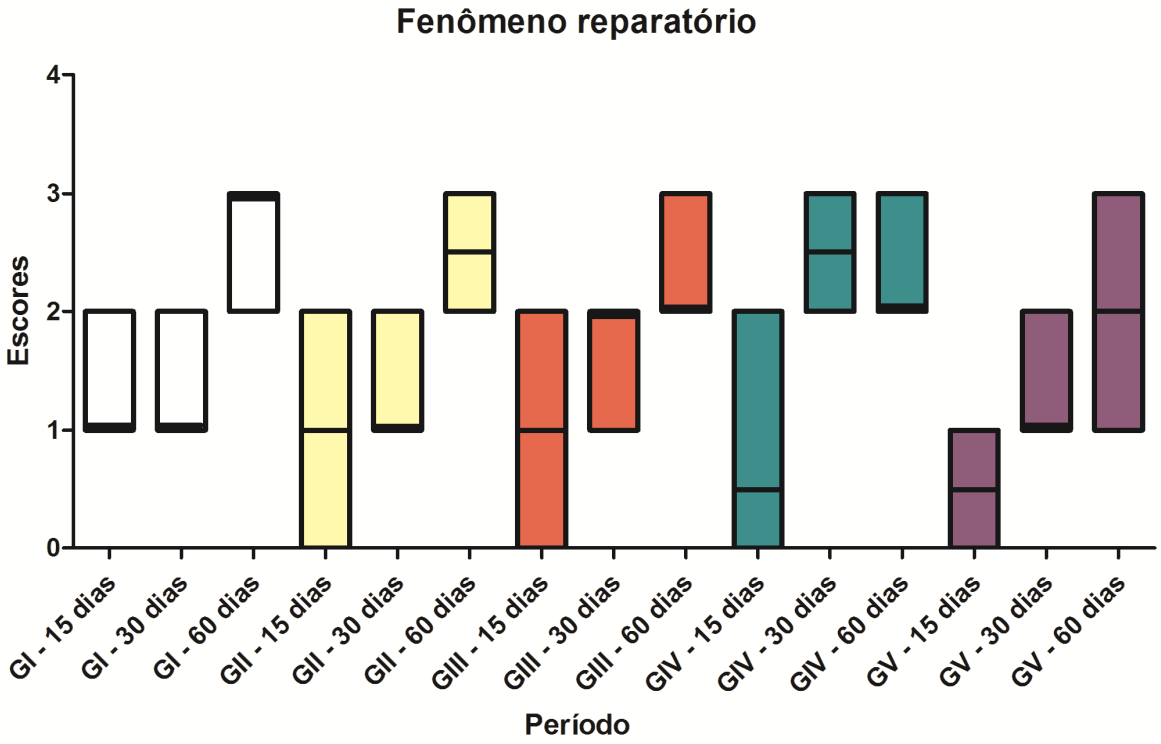

Gráfico 9 – Mediana, valores mínimo e máximo dos escores estabelecidos para o fenômeno reparatório em todos os períodos avaliados.

No período de 15 dias (Tabela 4) não foram observadas diferenças estatísticas significantes entre os grupos ($p>0,05$). O maior valor foi observado para os grupos I, II e III (1,0). Os grupos IV e V apresentaram valores similares, sendo estes os menores valores observados (0,5).

No período de 30 dias (Tabela 4) foram observadas diferenças estatísticas significantes entre os grupos IV e V ($p<0,05$). Os valores se mantiveram semelhantes ao período de 15 dias para os grupos I e II. O maior valor apresentado foi verificado para o grupo IV (2,5) e o menor valor para os grupos I, II e V (1,0).

No último período avaliado (60 dias), não houve diferença estatística significante entre os grupos ($p>0,05$). O maior valor foi apresentado pelo grupo I (3,0) e o menor valor para os grupos III, IV e V (2,0).

A análise individual de cada grupo ao longo dos períodos estudados permitiu observar diferença estatística significante na atividade reparadora do período inicial (15 dias) para o período de 60 dias em todos os grupos ($p<0,05$). O grupo IV apresentou diferença estatística significante também entre o período de 15 e 30 dias ($p<0,05$). Os grupos I e II apresentaram diferenças estatísticas significantes entre o período de 30 e 60 dias ($p<0,05$).

6 Discussão

6 DISCUSSÃO

6.1. Materiais empregados

O cimento Portland há muito tempo tem sido avaliado para ser utilizado em substituição ao MTA como um material retrobturador. Diversos estudos têm demonstrado semelhanças entre ambos no aspecto físico, químico e biológico (WUCHERPFENNIG; GREEN, 1999; ESTRELA, *et al.*, 2000; HOLLAND, *et al.*, 2001b; RIBEIRO, *et al.*, 2005; SAKAI, *et al.*, 2009). Em países com recursos econômicos limitados, a utilização do MTA torna-se, muitas vezes, inviável devido ao seu alto custo. A possibilidade de utilização de um material com características semelhantes, porém com um custo menor, permite o benefício de um maior número de pacientes. Entretanto, são necessárias mais pesquisas para reforçar o potencial do cimento Portland como um material endodôntico.

Em 2006, ISLAM; CHNG; YAP verificaram a radiopacidade do MTA e do cimento Portland e observaram que o MTA apresentou uma radiopacidade satisfatória, enquanto que a do cimento Portland era insuficiente para ser utilizado como cimento retrobturador. Sugeriram que essa diferença ocorreu devido à presença do radiopacificador óxido de bismuto na composição do MTA. Por esta razão, um radiopacificador deve ser adicionado ao cimento Portland para conferir radiopacidade suficiente para distinguí-lo das estruturas adjacentes em uma retrobturação. Porém, dependendo da concentração de radiopacificador adicionado, poderia ocorrer uma interferência negativa nas propriedades físicas do cimento (COOMARASWAMY; LUMLEY; HOFMANN, 2007). Além disso, o óxido de bismuto pode ser genotóxico em concentrações elevadas (GOMES CORNÉLIO, *et al.*, 2011). Posteriormente, alguns estudos foram realizados na tentativa de encontrar uma concentração ideal de óxido de bismuto a ser adicionada ao cimento Portland. BUENO *et al.* (2009) avaliaram a radiopacidade conferida pelas concentrações de 5%, 10%, 15%, 20%, 25% e 30% de óxido de bismuto adicionadas ao cimento Portland e concluíram ser necessário a adição de, pelo menos, 15% de óxido de bismuto para se ter uma radiopacidade que atende às normas da ISO (acima de 3 mmAl) (ISO, 2001).

Outros estudos buscaram verificar, além da radiopacidade, a citotoxicidade do cimento Portland associado a diferentes concentrações de óxido de bismuto (KIM, *et al.*, 2008; HWANG, *et al.*, 2009). A citotoxicidade dos materiais utilizados em retrobturações

gera grande preocupação devido à possibilidade de irritação nos tecidos paraendodônticos, retardando o processo de reparo (KIM, *et al.*, 2008). Um estudo publicado por KIM *et al.*, em 2008, avaliou a radiopacidade e citotoxicidade do cimento Portland com a adição de óxido de bismuto nas proporções de 4:1, 6:1 e 8:1 (CP/OB). Os autores verificaram que a proporção mais elevada (4:1) de óxido de bismuto conferiu ao cimento Portland uma radiopacidade semelhante à verificada para o MTA. Já em relação à citotoxicidade não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre as proporções ($p>0,05$). Concluíram que a proporção de 4:1, embora tenha sido a mais elevada do estudo, conferiu uma radiopacidade adequada sem, no entanto, promover um efeito citotóxico. Em 2009, HWANG *et al.*, avaliaram uma proporção um pouco maior de óxido de bismuto (25%) adicionada ao cimento Portland quanto à radiopacidade, citotoxicidade e resposta tecidual. Os resultados deste estudo demonstraram que a proporção de 25% de óxido de bismuto conferiu ao cimento Portland uma radiopacidade semelhante à apresentada pelo MTA, sendo este resultado divergente do encontrado por KIM *et al.* (2008) no qual a concentração de 20% foi semelhante ao MTA. Em relação à citotoxicidade verificaram que, embora o MTA tenha apresentado uma maior viabilidade celular, esta não foi estatisticamente significante em relação ao cimento Portland com 25% de óxido de bismuto ($p>0,05$). A análise da intensidade da reação inflamatória não demonstrou diferença estatística entre o MTA e o cimento Portland com óxido de bismuto ($p>0,05$), indicando que o aumento na proporção do radiopacificador não influenciou na intensidade da reação inflamatória.

Em 2008, COUTINHO-FILHO *et al.* avaliaram concentrações ainda mais elevadas de óxido de bismuto acrescentadas ao cimento Portland (1:1 e 2:1 CP/OB). No estudo foi avaliada a radiopacidade e a resposta tecidual à implantação do cimento no tecido subcutâneo de ratos. Os resultados, em relação à radiopacidade, demonstraram que não houve diferença estatística entre o MTA e o cimento Portland e óxido de bismuto na proporção de 1:1 ($p>0,05$), sendo este resultado divergente dos apresentados por KIM *et al.* (2008) e HWANG *et al.* (2009). Já a proporção de 2:1 foi significativamente menos radiopaca que o MTA ($p<0,05$). Em relação à resposta tecidual, a adição de óxido de bismuto não interferiu na intensidade da resposta do cimento Portland uma vez que não foram verificadas diferenças estatísticas entre os grupos ($p>0,05$). Resultado semelhante foi encontrado em um estudo utilizando o MTA, cimento Portland puro e cimento Portland com 20 e 30% de óxido de bismuto (TRINDADE; OLIVEIRA; FIGUEIREDO, 2003).

Há estudos realizados utilizando diferentes agentes radiopacificadores (DE MORAIS, *et al.*, 2006; DUARTE, *et al.*, 2009; GOMES CORNÉLIO, *et al.*, 2011), todavia

encontra-se certa discordância em relação ao emprego do óxido de bismuto associado ao cimento Portland. Alguns autores relatam alteração das propriedades físicas do cimento Portland (COOMARASWAMY; LUMLEY; HOFMANN, 2007), enquanto outros consideram este radiopacificador inerte aos tecidos (COUTINHO-FILHO, *et al.*, 2008). A possibilidade de comparação dos resultados obtidos neste estudo com os divergentes resultados apresentados na literatura até o momento, tanto em relação à sua radiopacidade quanto à resposta tecidual, são os motivos pelos quais esse agente radiopacificador foi selecionado. Além disso, o óxido de bismuto apresenta uma radiopacidade maior que outros radiopacificadores na mesma proporção (BORTOLUZZI, E. A., *et al.*, 2009; DUARTE, *et al.*, 2009), levando a crer que esta substância em menor quantidade poderia conferir uma radiopacidade semelhante a outras substâncias radiopacificadoras. O óxido de bismuto é empregado na composição do MTA. A resposta tecidual a esse cimento é consagrada na literatura como sendo adequada e satisfatória, e já se tem conhecimento na literatura de que o principal componente do MTA é o cimento Portland. Dessa forma, o emprego do mesmo agente radiopacificador, presente na composição do MTA, pode ser positivo no sentido de diminuir as barreiras que impedem a comercialização do cimento Portland como material de uso odontológico.

O MTA Angelus® apresenta em sua composição aproximadamente 80% de cimento Portland e 20% de óxido de bismuto em peso (MSDS, 2007). O ProRoot MTA® apresenta uma concentração em peso de 75% de clínquer de cimento Portland, 5% de gesso e 20% de óxido de bismuto (MSDS, 2010). Embora os fabricantes apontem uma concentração de óxido de bismuto semelhante em suas composições, alguns autores encontraram valores elevados para a radiopacidade do ProRoot MTA® em relação ao MTA Angelus® (TORABINEJAD, M., *et al.*, 1995). DUARTE *et al.* (2009) atribuem esta diferença na radiopacidade a um conteúdo elevado de óxido de bismuto presente no ProRoot MTA®, sendo esta diferença encontrada em um estudo realizado por SONG *et al.* (2006). Tais diferenças no conteúdo daquele radiopacificador, indicado pelo fabricante e verificado em estudo, levam a crer que o ProRoot MTA® apresenta o óxido de bismuto proporcionado em volume e não em peso como informa a bula do material. O proporcionamento realizado em volume resulta em uma diferença de peso entre o cimento Portland e o óxido de bismuto. O óxido de bismuto apresenta um peso molecular maior que o cimento Portland. Assim, por exemplo, um mesmo volume de óxido de bismuto e cimento Portland apresenta, em peso, uma quantidade maior de óxido de bismuto em razão do seu alto peso molecular (466,0 g/mol) (INDEX, 1996). Em 2010, DUARTE avaliou a radiopacidade e a resposta do tecido subcutâneo de ratos à

implantação do cimento Portland após os períodos de 7, 15 e 30 dias. Foram adicionados diferentes agentes radiopacificadores, em volume, na proporção de 4:1 (CP/OB) ao cimento Portland, entre eles o óxido de bismuto. Em peso, as proporções empregadas resultaram em um conteúdo de 41% de óxido de bismuto e 59% de cimento Portland. A radiopacidade verificada para o cimento Portland com óxido de bismuto foi correspondente a 7,87 mmAl. Em relação à intensidade da resposta inflamatória, houve uma diminuição no processo inflamatório do período de 7 para 30 dias.

As concentrações de óxido de bismuto empregadas no presente estudo foram determinadas em peso e resultaram em proporções de 0, 15, 20, 30 e 50% desse radiopacificador adicionadas ao cimento Portland. O grupo que não apresentava adição do radiopacificador em sua composição foi considerado como o controle do estudo, pois se almejava verificar a radiopacidade e a resposta tecidual advinda da adição do radiopacificador na composição do cimento Portland. As demais concentrações empregadas no estudo foram escolhidas em razão dos estudos anteriormente realizados e os resultados encontrados. As concentrações entre 10 e 20% apresentam, na literatura, resultados que atendem à norma ISO, que determina uma radiopacidade mínima de 3 mmAl para os cimentos endodônticos (ISO, 2001; KIM, *et al.*, 2008; BORTOLUZZI, *et al.*, 2009; BUENO, *et al.*, 2009; HWANG, *et al.*, 2009), outros autores encontraram resultados satisfatórios em relação à radiopacidade, resposta tecidual e citotoxicidade para concentrações mais elevadas (25 e 30%) (TRINDADE; OLIVEIRA; FIGUEIREDO, 2003; KIM, *et al.*, 2008; HWANG, *et al.*, 2009). COUTINHO-FILHO *et al.* (2008) também não verificaram diferença significante em relação à resposta tecidual com o emprego do cimento Portland contendo 50% de óxido de bismuto nos períodos de 7 e 60 dias.

6.2. Metodologia

6.2.1. Avaliação da radiopacidade

Para a avaliação da radiopacidade do cimento Portland, contendo diferentes concentrações de óxido de bismuto, foram seguidas as normas estabelecidas pela ISO 6876/2001 (International Organization for Standardization) e pela ADA nº 57 (American Dental Association) (ADA, 2000; ISO, 2001). As normas estipulam que os materiais a serem avaliados sejam inseridos, após a manipulação, em anéis metálicos com 10 mm de diâmetro interno e 1 mm de espessura. Após a presa dos materiais são feitas radiografias para análise da

densidade radiográfica. Tal metodologia foi utilizada para determinação da radiopacidade de materiais retrobturadores por diversos autores (SHAH, *et al.*, 1996; ISLAM; CHNG; YAP, 2006; KIM, *et al.*, 2008; TANOMARU-FILHO, *et al.*, 2008; BORTOLUZZI, *et al.*, 2009; DUARTE, *et al.*, 2009; HWANG, *et al.*, 2009; SALIBA, *et al.*, 2009; VIVAN, *et al.*, 2009). Alguns pesquisadores utilizaram para análise da radiopacidade anéis com 2 mm de espessura (LAGHIOS, *et al.*, 2000; BUENO, *et al.*, 2009). COUTINHO-FILHO *et al.* (2008) empregaram uma metodologia diferente da especificada pela ISO e ADA, inserindo os cimentos em tubos de polietileno de 5 mm de comprimento e 1,5 mm de diâmetro interno. PETRY (1997) também utilizaram tubos plásticos para a análise da radiopacidade de alguns cimentos obturadores endodônticos. Entretanto, a metodologia mais comumente empregada é a que segue as normas ISO 6876/2001 e ADA nº 57, permitindo uma comparação mais confiável entre o estudo realizado com os que anteriormente utilizaram a mesma metodologia.

Em nosso estudo foram empregados anéis metálicos com 10 mm de diâmetro interno e 1 mm de espessura, seguindo as normas nº 57 da ADA e ISO 6876/2001 para teste de radiopacidade de materiais obturadores de canais radiculares. Atualmente as duas metodologias são semelhantes com relação à espessura dos anéis metálicos utilizados, sendo que antigamente a norma da ADA estabelecia uma altura de 2 mm para os anéis metálicos. ORFALI; LILLEY; MOLOKHIA (1987) compararam a radiopacidade de alguns materiais após a utilização de anéis com duas espessuras diferentes, encontrando diferença estatisticamente significante entre a radiopacidade de um mesmo material. Dessa forma, a determinação da espessura a ser empregada no estudo torna-se um fator importante ao se comparar diferentes trabalhos realizados. As normas da ISO e da ADA também determinam algumas especificações para a realização da radiografia dos materiais. Em relação à kilovoltagem a ser utilizada, a norma especifica um valor de 65 kV (+ ou – 5 kV), miliamperagem de 10 mA e uma distância foco filme de 40 cm. No presente estudo as normas foram seguidas, sendo a kilovoltagem empregada de 70 kV, miliamperagem de 10 mA, com tempo de exposição de 0,2 segundos e distância foco/filme de 40 cm.

O método de análise empregado no estudo foi o sistema digital. Quando se emprega esse sistema, é realizada a quantificação de tonalidades de cinza presentes na radiografia, variando do preto até o branco com um total de 256 tons de cinza. Por meio desse sistema é determinada a densidade radiográfica do material, sendo que nesse caso, quanto maior o valor registrado, mais radiopaco é o material. Alguns estudos anteriormente realizados empregaram essa metodologia (BORTOLUZZI, *et al.*, 2009; BUENO, *et al.*, 2009; DUARTE, *et al.*, 2009). Alguns estudos empregam a análise por meio de fotodensitômetro

que fornece valores de densidade óptica, sendo que quanto maior o valor, mais radiolúcido o material (COUTINHO-FILHO, *et al.*, 2008; KIM, *et al.*, 2008; HWANG, *et al.*, 2009). BAKSI *et al.* (2008) compararam o sistema digital (densidade radiográfica) com a análise por meio de fotodensitômetro (densidade óptica) e concluíram que o uso do sistema digital é viável para a análise da radiopacidade de materiais endodônticos. A análise da radiopacidade por meio de fotodensitômetro exige a utilização de um equipamento específico que apresenta um custo consideravelmente elevado, inviabilizando o seu emprego no presente estudo.

Foram confeccionados três corpos de prova de cada material e, em cada espécime, foram selecionados três pontos para medição da radiopacidade. A análise da densidade radiográfica dos corpos de prova e escala de alumínio foram feitas com o auxílio do programa Digora, de acordo com DUARTE *et al.* (2009). Seguindo metodologias anteriormente realizadas, os valores obtidos da densidade radiográfica foram convertidos em mm de Al. A calibração da densidade radiográfica das imagens foi realizada com o auxílio da escala de alumínio, também denominada penetrômetro, radiografada juntamente com os corpos de prova. Essa escala de alumínio apresentava 16 mm de comprimento e variações de espessura de 2 mm, de acordo com TANOMARU-FILHO *et al.* (2008), BORTOLUZZI, *et al.* (2009), DUARTE *et al.* (2009) e VIVAN *et al.* (2009). Outros autores empregaram escalas com espessuras diferentes da utilizada no estudo. KIM *et al.* (2008) empregaram escala com espessura variando de 1-10 mm. BUENO *et al.* (2009) utilizaram escala com variação de 1-8 mm e, também em 2009, GORDUYSUS; AVCU utilizaram escala de espessura de 1-12 mm. A variação na espessura da escala de alumínio utilizada não deve influenciar na densidade radiográfica verificada, uma vez que a função do penetrômetro é de calibrar apenas a densidade radiográfica do filme.

6.2.2. Avaliação da resposta tecidual

Para a avaliação da resposta biológica, podem ser empregados diversos tipos de testes como citotoxicidade, genotoxicidade e os testes secundários que são representados pelos testes de implantação subcutânea e óssea e, por último os testes realizados em cães, macacos ou em humanos (ESTRELA, 2005). Os testes de citotoxicidade e genotoxicidade são considerados iniciais, pois geralmente empregam células isoladas em meio de cultura em que se avalia a morte celular quando expostas a determinado material. Diversos estudos avaliaram a citotoxicidade dos cimentos MTA e Portland (SAIDON, *et al.*, 2003; DE DEUS, *et al.*, 2005; KIM, *et al.*, 2008; HWANG, *et al.*, 2009). O teste de análise da genotoxicidade tem

como objetivo verificar se ocorre alteração no DNA celular, sendo também utilizado para a análise dos cimentos retrobturadores (RIBEIRO, *et al.*, 2005; RIBEIRO, *et al.*, 2006; RIBEIRO, *et al.*, 2009).

Os estudos experimentais utilizando animais de laboratório são considerados mais complexos, pois é possível verificar a resposta tecidual frente a determinado material. Grande parte dos estudos, que avaliam a biocompatibilidade dos cimentos endodônticos, por meio do teste de implantação subcutânea, utiliza o rato de laboratório como modelo experimental (HOLLAND, *et al.*, 2001b; COSTA; BACALHAU; HEBLING, 2003; TRINDADE; OLIVEIRA; FIGUEIREDO, 2003; DE MORAIS, *et al.*, 2006; COUTINHO-FILHO, *et al.*, 2008; VOSOUGHHOSSEINI, *et al.*, 2008; SHAHI, *et al.*, 2010). Segundo RODRIGUEZ SOSA (2004), o rato possui um metabolismo acelerado, permitindo a obtenção de resultados num menor período de tempo comparados com outros animais. Outra vantagem da utilização do rato de laboratório é que sua reprodução é controlada permitindo a eliminação de fatores individuais como deficiência imune, doenças genéticas, além da facilidade de manejo e obtenção do número de amostras necessárias (KRINKE, 2000).

No estudo foram implantados tubos de polietileno contendo o material no seu interior, de acordo com estudos já realizados (TRINDADE; OLIVEIRA; FIGUEIREDO, 2003; COUTINHO-FILHO, *et al.*, 2008; VOSOUGHHOSSEINI, *et al.*, 2008; SHAHI, *et al.*, 2010). A utilização dos tubos de polietileno apresenta vantagens como a facilidade de inserção do cimento em seu interior e ausência de toxicidade como verificado por TORNECK (1966) e COSTA; BACALHAU; HEBLING (2003). Embora alguns estudos tenham empregado tubos de dentina para os testes de implantação subcutânea (HOLLAND, *et al.*, 2001b; GOMES-FILHO, *et al.*, 2008), BORTOLO, em 2009, não verificou diferença na reação tecidual entre tubos de dentina e de polietileno.

Neste estudo, foram implantados dois tubos de polietileno, contendo o mesmo material em cada animal. As duas extremidades de cada tubo apresentavam o cimento, diferentemente de estudos anteriores em que se empregava a guta-percha em uma das extremidades (BORTOLUZZI, 2005; KATO, 2007) ou uma das extremidades do tubo fechada com auxílio de instrumento aquecido (SILVEIRA, 2008). Ao contrário de outros estudos que empregaram o tubo de polietileno como controle (DE MORAIS, *et al.*, 2006; SHAHI, *et al.*, 2006), no presente estudo optou-se pela utilização do cimento Portland sem radiopacificador em sua composição para a comparação com o cimento Portland, contendo diferentes proporções de óxido de bismuto. A escolha pela implantação do mesmo material

por animal foi feita devido ao fato de eliminar a possibilidade de interferência na resposta tecidual entre materiais de composições diferentes.

Em relação aos tempos experimentais estabelecidos para o estudo, foram escolhidos os períodos de 15, 30 e 60 dias após a implantação, com o objetivo de verificar a reação em período curto e longo. Alguns estudos empregaram um período mais curto como 7 dias ou mais longo como 90 dias (COSTA; BACALHAU; HEBLING, 2003; TRINDADE; OLIVEIRA; FIGUEIREDO, 2003; COUTINHO-FILHO, *et al.*, 2008; VOSOUGHHOSSEINI, *et al.*, 2008). No período de 7 dias podem ocorrer, ainda, resquícios do trauma cirúrgico, mascarando a verdadeira resposta do material (COUTINHO-FILHO, *et al.*, 2008). No período de 15 dias a reação tecidual já não sofre qualquer interferência dos procedimentos cirúrgicos. Aos 30 dias os fenômenos reparatórios já estão definidos e no período de 60 dias estão consolidados.

Para a análise dos resultados do teste de implantação subcutânea, a análise descritiva dos fenômenos teciduais é muito importante, sendo esta utilizada amplamente por diversos autores em trabalhos de análise de biocompatibilidade (DE MORAIS, *et al.*, 2006; SHAHI, *et al.*, 2006), e a análise quantitativa com a contagem de células inflamatórias e estabelecimento de escores para o processo reparatório. Os critérios utilizados para a contagem de células inflamatórias foram adaptados do trabalho de VOSOUGHHOSSEINI *et al.* (2008). Para o fenômeno reparatório foi estabelecida a formação de tecido fibrocelular. Para a análise do critério de infiltrado inflamatório foram observados 30 campos por animal, enquanto que para o critério de fenômeno reparatório foi observado o aspecto geral das lâminas correspondentes a cada animal e atribuído apenas um escore. Tal escolha baseia-se no fato de que para a reparação, a observação do aspecto geral permite uma maior confiabilidade no resultado, uma vez que o processo reparatório deve ser analisado em seu aspecto geral, sem contabilização das células presentes no processo. Já para o infiltrado inflamatório, a presença das células inflamatórias pode variar bastante de campo para campo, sendo mais adequada a contagem de células individualmente por campo microscópico.

6.3. Resultados

6.3.1. Radiopacidade

O cimento Portland branco sem radiopacificador (grupo I), apresentou uma radiopacidade de 1,73 mmAl, inferior à radiopacidade mínima exigida para um cimento

endodôntico, segundo a norma ISO, e abaixo, também, da radiopacidade verificada para a dentina (1,74 mmAl), por DUARTE *et al.* (2009). Dessa forma, torna-se inviável a utilização do cimento Portland sem um agente radiopacificador devido à impossibilidade da sua diferenciação das estruturas dentárias adjacentes. Estudos anteriores verificaram uma radiopacidade ainda menor em relação à encontrada, no presente estudo, para o cimento Portland branco sem radiopacificador. ISLAM; CHNG; YAP em 2006 verificaram uma radiopacidade de 0,95 mmAl, DUARTE *et al.* (2009) encontraram um valor de 1,01 mmAl e BORTOLUZZI *et al.* (2009) verificaram um valor de 1,69 mmAl, sendo um valor mais próximo ao encontrado no presente estudo. KIM *et al.* (2008) encontraram o valor de 0,86 mmAl, porém não especificaram se o cimento Portland utilizado foi o branco ou o cinza.

As diferentes concentrações de óxido de bismuto associadas ao cimento Portland propiciaram valores médios de radiopacidade (Tabela 2 e Gráfico 1), que atendem e superam o mínimo recomendado pelas normas ADA nº 57 e ISO 6876/2001, que é de 3 mmAl. Os valores médios de radiopacidade encontrados, e próximos do recomendado (grupo II= 3,65 e grupo III= 3,82), correspondem aos cimentos Portland com 15 e 20% de óxido de bismuto. E na comparação estatística entre os grupos I, II e III, as diferenças encontradas não foram significantes, todavia o valor médio (8,66) de radiopacidade do grupo V (50% de óxido de bismuto) proporcionou diferença significante em relação aos demais grupos ($p<0,05$). Por outro lado, o grupo IV (5,94) apresentou diferença significante apenas em relação ao grupo I (1,73) ($p<0,05$).

A literatura tem revelado resultados diversificados de radiopacidade, com óxido de bismuto, em relação aos resultados obtidos no presente estudo. O experimento desenvolvido por BUENO *et al.* (2009), avaliando as concentrações de 5%, 10%, 15% 20%, 25% e 30% de óxido de bismuto, encontraram valores entre 3-4,0 mmAl para a concentração de 15%, e entre 5-6,0 mmAl para a concentração de 30%, semelhantes aos resultados do presente estudo. Em relação à concentração de 20% verificaram uma radiopacidade mais elevada (entre 4-5,0 mmAl) que a verificada no presente estudo (3,82 mmAl). SALIBA *et al.* (2009) avaliaram as concentrações de 0, 10, 15, 20, 25 e 30% de óxido de bismuto e encontraram, também, valores mais elevados para a radiopacidade que as verificadas neste estudo. Para as concentrações de 15, 20 e 30% verificaram valores de radiopacidade de 4,68; 6,62 e 9,79, respectivamente. Em nosso estudo, para as mesmas concentrações, obtivemos 3,65; 3,82 e 5,94 mmAl. É interessante ressaltar que o valor de 9,79 mmAl, correspondente a 30% de óxido de bismuto, foi mais elevada que a radiopacidade para a concentração de 50% (8,66 mmAl) obtida em nosso estudo. Valores mais elevados foram também encontrados por

HWANG *et al.* (2009) para a concentração de 25% (6,04 mmAl), superando o valor encontrado para a proporção de 30% do presente estudo (5,94 mmAl). O resultado apresentado por KIM *et al.* (2008), para a proporção de 20% de óxido de bismuto (6,81 mmAl), superou os valores verificados, no presente estudo, para as proporções de 20 e 30%. É importante salientar que, nos estudos desenvolvidos por KIM *et al.* (2008), HWANG *et al.* (2009) e SALIBA *et al.* (2009), apesar dos valores de radiopacidade mais elevados, realizaram o proporcionamento de cimento Portland e de óxido de bismuto em peso, conforme metodologia de nosso trabalho. Com relação ao estudo de BUENO *et al.* (2009) encontrando valores mais próximos aos apresentados para as concentrações de 15 e 30%, pode estar relacionado, possivelmente, à utilização da mesma marca do cimento Portland utilizado no presente estudo. A diversificação de valores de radiopacidade, proporcionado pelo óxido de bismuto, encontrados nos trabalhos de SALIBA *et al.* (2009), HWANG *et al.* (2009) e KIM *et al.* (2008), pode ser explicada a partir de uma variedade de fatores vinculados aos materiais e metodologias utilizados nos referidos experimentos. Foram empregadas outras marcas de cimento Portland, variações em relação à distância foco-filme, kilovoltagem, miliamperagem, tempo de exposição, espessura dos anéis, penetrômetro e método de análise. Em relação à distância foco-filme, os estudos de HWANG *et al.* (2009) e KIM *et al.* (2008), utilizaram a distância de 30 cm, enquanto o presente estudo utilizou uma distância de 40 cm assim como o estudo de BUENO *et al.* (2009). Já em relação à kilovoltagem empregada, houve semelhança com os estudos de HWANG *et al.* (2009) e KIM *et al.* (2008) que também utilizaram um valor de 70 Kv, porém em relação à miliamperagem (10 mA) houve semelhança apenas com o estudo de KIM *et al.* (2008). O tempo de exposição empregado no presente estudo foi de 0,2 segundos enquanto os estudos de BUENO *et al.* (2009) e HWANG *et al.* (2009) empregaram um tempo de 0,25 segundos. Em relação à espessura dos anéis metálicos, empregados para a confecção das amostras, apenas o estudo de BUENO *et al.* (2009), que utilizou anéis de 2 mm, diferiu do atual estudo que empregou anéis de 1 mm. Uma grande variação foi observada para o penetrômetro de alumínio utilizado. BUENO *et al.* (2009) e KIM *et al.* (2008) empregaram escalas com variação de 1 mm, já no estudo atual foi utilizado penetrômetro com variação de 2 mm. Em relação ao método de análise empregado, encontra-se grande variação entre os estudos. BORTOLUZZI *et al.* (2009), BUENO *et al.* (2009) e SALIBA *et al.* (2009) empregaram a análise por meio do sistema digital (densidade radiográfica), enquanto KIM *et al.* (2008) e HWANG *et al.* (2009) empregaram a análise por meio de fotodensitômetro (densidade óptica). Essa diferença no método de análise pode ter influenciado na diferença de resultados observada entre os

estudos. BAKSI *et al.* (2008) avaliaram os dois métodos de análise e verificaram que os valores alumínio equivalentes foram menores pelo sistema digital que pela fotodensitometria. Essa diferença pode explicar os maiores valores encontrados para a radiopacidade nos estudos de KIM *et al.* (2008) e HWANG *et al.* (2009) em relação ao presente estudo em que se empregou análise pelo sistema digital.

A radiopacidade do cimento MTA foi analisada por diversos estudos e pode ser comparada aos resultados encontrados para o cimento Portland com óxido de bismuto, para a investigação da concentração necessária para que o cimento Portland se assemelhe ao MTA. BUENO *et al.* (2009) verificaram uma radiopacidade entre 4-5,0 mmAl para o MTA Angelus®, o que corresponderia a uma proporção entre 20 e 30% de óxido de bismuto baseado nos resultados obtidos no presente estudo (Tabela 2). Outros estudos também avaliaram a radiopacidade do MTA e encontraram valores diferentes. HWANG *et al.* (2009) encontraram uma radiopacidade correspondente a 6,53 mmAl e KIM *et al.* (2008) um valor de 6,92 mmAl. Tais valores correspondem a uma proporção acima de 30% verificada no presente estudo (Tabela 2). O estudo realizado por BUENO *et al.* (2009) empregou o MTA Angelus®, enquanto o estudo de HWANG *et al.* (2009) empregou o cimento ProRoot MTA® e KIM *et al.* (2008) não especificaram a origem do MTA empregado, porém pelos resultados apresentados suspeita-se que, também, tenha sido o ProRoot MTA®. As diferenças obtidas nesses estudos reforçam os relatos de DUARTE *et al.* (2009) em relação à diferença de concentração de óxido de bismuto presente nas composições do MTA Angelus® e do ProRoot MTA®. Segundo o autor, acredita-se que o ProRoot MTA® apresenta em sua composição o óxido de bismuto proporcionado em volume e não em peso como especificado na bula do fabricante.

6.3.2. Resposta tecidual

Para a análise da reação tecidual foram estabelecidos dois critérios: as células inflamatórias e o fenômeno reparatório. Diversos estudos realizados comprovam a semelhança na resposta tecidual entre o MTA e o cimento Portland (WUCHERPFENNIG; GREEN, 1999; ESTRELA, *et al.*, 2000; HOLLAND, *et al.*, 2001b; RIBEIRO, *et al.*, 2005; SAKAI, *et al.*, 2009). Entretanto a resposta frente à adição de óxido de bismuto ao cimento Portland ainda é duvidosa e requer mais investigação. Na análise comparativa, para células inflamatórias (Tabela 3), entre os grupos, em cada período, não foram verificadas diferenças estatisticamente significantes ($p>0,05$), indicando que o aumento na proporção de óxido de bismuto, adicionado ao cimento Portland, não interferiu na intensidade da resposta inflamatória. A análise de cada grupo, em relação aos períodos estudados, demonstrou diminuição de intensidade do infiltrado inflamatório do período de 15 para o de 30 dias sem significância estatística ($p>0,05$), exceto o grupo II(15%), cuja diferença foi significativa. Na comparação do período de 15 com o de 60 dias ocorreu uma diminuição acentuada do infiltrado inflamatório para os grupos II, III, IV e V sendo significante, apenas, para o grupo II (15%). Em relação ao grupo I houve aumento do infiltrado inflamatório ($p>0,05$). Entre os períodos de 30 e 60 dias ocorreu aumento do infiltrado inflamatório para os grupos I, II, III e IV, e para o grupo V houve diminuição, todavia para as duas situações as diferenças foram insignificantes. O mesmo padrão de comportamento do infiltrado inflamatório não foi verificado no trabalho de HWANG *et al.* (2009), em que ocorreu aumento na resposta inflamatória nos períodos de 10, 30 e 60 dias para o cimento Portland com 25% de óxido de bismuto. Mas, os autores não encontraram diferença estatisticamente significante entre o cimento Portland puro, o MTA e o cimento Portland com 25% de óxido de bismuto em todos os períodos avaliados. Esse resultado indica semelhança entre o MTA e o cimento Portland com óxido de bismuto. Resultados semelhantes foram encontrados por TRINDADE; OLIVEIRA; FIGUEIREDO (2003) estudando as proporções de 20 e 30% de óxido de bismuto em que também não houve diferença estatisticamente significante entre o cimento Portland puro, o MTA e o cimento Portland, com as duas diferentes proporções de óxido de bismuto estudadas ($p>0,05$). COUTINHO-FILHO *et al.* (2008) também não encontraram diferenças estatisticamente significantes entre as proporções avaliadas (1:1 e 2:1 CP/OB) e o MTA ($p>0,05$). Mesmo uma proporção de 50% de óxido de bismuto não interferiu na resposta apresentada pelo cimento Portland. Os autores entendem que a adição do óxido de bismuto ao cimento Portland não interfere na biocompatibilidade do cimento. Uma das possíveis

explicações para a ausência de diferença estatística entre os grupos, mesmo com uma adição de 50% de óxido de bismuto pode ser o fato de que esse agente radiopacificador apresenta um peso molecular alto. Dessa forma, mesmo que a proporção em peso corresponda a 50%, em volume a proporção de óxido de bismuto tende a ser bem menor que de cimento Portland. Além disso, os resultados encontrados pelos trabalhos corroboram com o sugerido por COUTINHO-FILHO *et al.* (2008), de que o óxido de bismuto pode ser uma substância quimicamente inerte.

Baseado na ausência de aumento estatisticamente significativo na resposta tecidual frente à adição de óxido de bismuto ao cimento Portland, TRINDADE; OLIVEIRA; FIGUEIREDO (2003) sugerem o aumento na concentração de óxido de bismuto na composição do MTA, para melhorar sua visualização radiográfica. Entretanto foi reportado na literatura um prejuízo nas propriedades físicas do cimento Portland com o aumento da adição de óxido de bismuto na proporção de 0 a 40% (COOMARASWAMY; LUMLEY; HOFMANN, 2007). Segundo os autores, a adição de óxido de bismuto diminuiu a força de compressão, aumentou a porosidade e diminuiu a densidade. Além disso, o aumento de porosidade pode aumentar a solubilidade e contribuir para o surgimento de degradação do material e, consequentemente, diminuir sua longevidade. Neste sentido, seria importante a realização de mais estudos para verificar se existe uma correlação entre o aumento de agente radiopacificador e surgimento de falhas na interface das retrobturações.

O outro parâmetro avaliado no presente estudo foi o fenômeno reparatório, usando como parâmetro a formação de tecido fibrocelular. A maioria dos estudos que avaliam a resposta tecidual observa apenas a reação inflamatória provocada, não realizando a análise do fenômeno reparatório desenvolvido ao longo dos períodos. Essa análise torna-se importante pelo fato de o material em questão estar permanentemente em contato com o tecido após um procedimento de retrobturação. Dentre as propriedades desejáveis para o cimento encontra-se a sua capacidade de promover ou não interferir no processo de reparo tecidual. Em geral, para todos os grupos, foi observado um aumento estatisticamente significante de tecido fibrocelular do período inicial (15 dias) para o período final (60 dias) ($p<0,05$). Os resultados indicam que, ao mesmo tempo em que houve uma diminuição nas células inflamatórias observadas, também ocorreu um aumento no tecido fibrocelular ao longo dos períodos.

A análise dos grupos, em cada período, revelou que no período de 15 dias o reparo foi semelhante para todos os grupos, sem diferença estatisticamente significante ($p>0,05$). No período de 30 dias houve diferença estatisticamente significante entre os grupos IV e V com 30 e 50%, respectivamente ($p<0,05$). No período de 60 dias não houve diferença

estatística entre os grupos avaliados (p>0,05). A ausência de estudos avaliando esse parâmetro dificulta a comparação. COUTINHO-FILHO *et al.* (2008) analisaram se houve fibrose e calcificação com a adição de óxido de bismuto nas proporções de 1:1 e 2:1 no cimento Portland e compararam com o cimento Portland puro e MTA. Os períodos analisados foram de 7 e 60 dias. Os autores detectaram a formação de uma cápsula fibrosa de moderada espessura em todos os grupos aos 60 dias. Também aos 60 dias para todos os grupos, os autores relataram que 20% das amostras apresentaram sítios isolados de calcificação distrófica, critério não analisado em nosso estudo.

7 Conclusões

7 CONCLUSÕES

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

1 – A adição de 15 a 20% de óxido de bismuto ao cimento Portland é suficiente para conferir ao material uma radiopacidade que atende ao mínimo recomendado pelas normas nº 57 da ADA e da ISO 6876/2001;

2 – A diminuição do infiltrado inflamatório associado ao aumento do tecido fibrocelular, ao longo dos períodos estudados, fundamentam a ausência de citotoxicidade do óxido de bismuto incorporado ao cimento Portland.

Referências

REFERÊNCIAS

ADA. Specification nº 57 for endodontic filling material. Chicago; 2000.

Baksi BG, Sem BH, Eyuboglu TF. Differences in aluminum equivalent values of endodontic sealers: conventional versus digital radiography. J Endod. 2008;34(9):1101-1104.

Bernabé PFE, Holland R. Cirurgia parendodôntica: quando indicar e como realizá-la.: In: Gonçalves, E.A; Feller, C. Atualização na clínica odontológica: a prática da clínica geral. São Paulo: Artes Médicas; 1998. p. 217-54.

Beyer-Olsen EM, Orstavik D. Radiopacity of root canal sealers. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1981;51(3):320-8.

Bortolo M, V. Análise comparativa da reação tecidual à implantação de tubos de polietileno, bastões de dentina e cápsula de colágeno. Estudo microscópico em tecido subcutâneo de rato. Avaliação de um modelo metodológico. Bauru: Dissertação (Mestrado), Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo; 2009. p. 173.

Bortoluzzi EA. Avaliação da reação do tecido subcutâneo de ratos à implantação dos cimentos MTA e Portland brancos acrescidos de radiopacificadores. Bauru: (Dissertação Mestrado) Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo; 2005. p. 203.

Bortoluzzi EA, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, Duarte MA. Radiographic effect of different radiopacifiers on a potential retrograde filling material. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009;108(4):628-32.

Braz MG, Marcondes JP, Matsumoto MA, Duarte MA, Salvadori DM, Ribeiro DA. Genotoxicity in primary human peripheral lymphocytes after exposure to radiopacifiers in vitro. J Mater Sci Mater Med. 2008;19(2):601-5.

Bueno C, Zeferino E, Manhães LJ, Rocha D, Cunha R, De Martin A. Study of the bismuth oxide concentration required to provide Portland cement with adequate radiopacity for endodontic use. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009;107(1):e65-9.

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

Camilleri J, Montesin FE, Di Silvio L, Pitt Ford TR. The chemical constitution and biocompatibility of accelerated Portland cement for endodontic use. Int Endod J. 2005;38(11):834-42.

Camilleri J. Characterization and chemical activity of Portland cement and two experimental cements with potential for use in dentistry. Int Endod J. 2008;41(9):791-9.

Camilleri J, Pitt Ford TR. Evaluation of the effect of tracer pH on the sealing ability of glass ionomer cement and mineral trioxide aggregate. J Mater Sci Mater Med. 2008;19(8):2941-8.

Camilleri J. Evaluation of the physical properties of an endodontic Portland cement incorporating alternative radiopacifiers used as root-end filling material. 2010;43:231-240.

Camilleri J, Gandolfi MG. Evaluation of the radiopacity of calcium silicate cements containing different radiopacifiers. 2010;43:21-30.

Chng HK, Islam I, Yap AU, Tong YW, Koh ET. Properties of a new root-end filling material. J Endod. 2005;31(9):665-8.

Conti TR, Sakai VT, Fornetti AP, Moretti AB, Oliveira TM, Lourenço Neto N, et al. Pulpotomies with Portland cement in human primary molars. J Appl Oral Sci. 2009;17(1):66-9.

Coomaraswamy KS, Lumley PJ, Hofmann MP. Effect of bismuth oxide radioopacifier content on the material properties of an endodontic Portland cement-based (MTA-like) system. J Endod. 2007;33(3):295-8.

Costa CAS, Bacalhau JT, Hebling J. Estudo preliminar da biocompatibilidade de diferentes cimentos usados na terapia pulpar. Rev pós-grad; 2003. p. 25-36.

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

D'Antò V, Di Caprio MP, Ametrano G, Simeone M, Rengo S, Spagnuolo G. Effect of mineral trioxide aggregate on mesenchymal stem cells. J Endod. 2010;36(11):1839-43.

De-Deus G, Coutinho-Filho T. The use of white Portland cement as an apical plug in a tooth with a necrotic pulp and wide-open apex: a case report. Int Endod J. 2007;40(8):653-60.

De-Deus G, Petruccelli V, Gurgel-Filho E, Coutinho-Filho T. MTA versus Portland cement as repair material for furcal perforations: a laboratory study using a polymicrobial leakage model. Int Endod J. 2006;39(4):293-8.

De Deus G, Ximenes R, Gurgel-Filho ED, Plotkowski MC, Coutinho-Filho T. Cytotoxicity of MTA and Portland cement on human ECV 304 endothelial cells. Int Endod J. 2005;38(9):604-9.

de Morais CA, Bernardineli N, Garcia RB, Duarte MA, Guerisoli DM. Evaluation of tissue response to MTA and Portland cement with iodoform. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006;102(3):417-21.

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

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

Duarte MAH. Comportamento biológico, físico e químico do cimento Portland associado a diferentes radiopacificadores. Bauru: Livre Docência. Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo; 2010. p. 177.

Estrela C. Metodologia Científica. 2 ed. São Paulo: Artes Médicas; 2005.

Estrela C, Bammann L, Estrela C, Silva R, Pécora J. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. Braz Dent J. 2000;11(1):3-9.

Fridland M, Rosado R. Mineral trioxide aggregate (MTA) solubility and porosity with different water-to-powder ratios. J Endod. 2003;29(12):814-7.

Gandolfi MG, Perut F, Ciapetti G, Mongiorgi R, Prati C. New Portland cement-based materials for endodontics mixed with articaine solution: a study of cellular response. J Endod. 2008;34(1):39-44.

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

Gomes Cornélio AL, Salles LP, Campos da Paz M, Cirelli JA, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru Filho M. Cytotoxicity of Portland cement with different radiopacifying agents: a cell death study. J Endod. 2011;37(2):203-10.

Gorduysus M, Avcu N. Evaluation of the radiopacity of different root canal sealers. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009;108(3):e135-40.

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

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

Duarte MA, de Oliveira El Kadre GD, Vivan RR, Guerreiro Tanomaru JM, Tanomaru Filho M, de Moraes IG. Radiopacity of portland cement associated with different radiopacifying agents. J Endod. 2009;35(5):737-40.

Hwang YC, Lee SH, Hwang IN, Kang IC, Kim MS, Kim SH, et al. Chemical composition, radiopacity, and biocompatibility of Portland cement with bismuth oxide. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009;107(3):e96-102.

INDEX. 12 ed. Whitehouse Station, Merck; 1996.

Islam I, Chng HK, Yap AU. Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and portland cement. J Endod. 2006;32(3):193-7.

ISO 6876 Dental Root Canal Sealing Materials. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2001.

Juárez Broon N. Tratamento de perfurações radiculares em dentes de cães com agregado trióxido mineral (MTA) e cimento Portland com e sem cloreto de cálcio. Bauru: (Dissertação Mestrado), Faculdade Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo; 2004. p. 200.

Kato MMM. Avaliação microscópica da implantação, em subcutâneo de ratos, do agregado trióxido mineral- CPM e do clínquer do cimento Portland branco puro e acrescido de 2 e 5% de sulfato de cálcio e determinação de seus tempos de presa. Bauru: (Dissertação Mestrado) Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo; 2007. p. 215.

Kim E, Lee B, Chang H, Lee W, Hong C, Min K. Evaluation of the radiopacity and cytotoxicity of Portland cements containing bismuth oxide. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2008;105(1):e54-7.

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

Krinke GL. The Laboratory rat. London: Academic Press; 2000. p. 3-16.

Laghios CD, Benson BW, Gutmann JL, Cutler CW. Comparative radiopacity of tetracalcium phosphate and other root-end filling materials. Int Endod J. 2000;33(4):311-5.

Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. J Endod. 1993; 19(11):541-44.

Lee SK, Lee SI, Park JH, Jang JH, Kim HW, Kim EC. Effect of calcium phosphate cements on growth and odontoblastic differentiation in human dental pulp cells. J Endod. 2010;36(9):1537-42.

Martínez Lalis R, Esaín ML, Kokubu GA, Willis J, Chaves C, Grana DR. Rat subcutaneous tissue response to modified Portland cement, a new mineral trioxide aggregate. Braz Dent J. 2009;20(2):112-7.

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

Min KS, Chang HS, Bae JM, Park SH, Hong CU, Kim EC. The induction of heme oxygenase-1 modulates bismuth oxide-induced cytotoxicity in human dental pulp cells. J Endod. 2007a;33(11):1342-6.

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

Min KS, Lee SI, Lee Y, Kim EC. Effect of radiopaque Portland cement on mineralization in human dental pulp cells. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009;108(4):e82-6.

Monteiro Bramante C, Demarchi AC, de Moraes IG, Bernadineli N, Garcia RB, Spångberg LS, et al. Presence of arsenic in different types of MTA and white and gray Portland cement. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2008;106(6):909-13.

MSDS. Material Safety Data Sheet MTA Angelus. 2007. p. 1-4.

MSDS. Material Safety Data Sheet ProRoot MTA Root Canal Repair Material. Dentsply Tulsa Dental Specialties; 2010. p. 1-4.

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

Orfali F, Lilley JD, Molokhia A. The radiopacity of some endodontic sealers cements. J Dent Res; 1987. p. 876.

Paranjpe A, Zhang H, Johnson JD. Effects of mineral trioxide aggregate on human dental pulp cells after pulp-capping procedures. J Endod. 2010;36(6):1042-7.

Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part I: chemical, physical, and antibacterial properties. J Endod. 2010;36(1):16-27.

Perinpanayagam H. Cellular response to mineral trioxide aggregate root-end filling materials. J Can Dent Assoc. 2009;75(5):369-72.

Petry AEA. Evaluation of endodontic sealers radiopacity using digitized imaging equipment. Braz Endod J; 1997. p. 24-8.

Pitt Ford T, Andreasen J, Dorn S, Kariyawasam S. Effect of super-EBA as a root end filling on healing after replantation. J Endod. 1995;21(1):13-5.

Reyes-Carmona JF, Felippe MS, Felippe WT. Biomineralization ability and interaction of mineral trioxide aggregate and white portland cement with dentin in a phosphate-containing fluid. J Endod. 2009;35(5):731-6.

Ribeiro DA, Carlin V, Fracalossi AC, Oyama LM. Radiopacifiers do not induce genetic damage in murine fibroblasts: an in vitro study. Int Endod J. 2009;42(11):987-91.

Ribeiro DA, Duarte MA, Matsumoto MA, Marques ME, Salvadori DM. Biocompatibility in vitro tests of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements. J Endod. 2005;31(8):605-7.

Ribeiro DA, Sugui MM, Matsumoto MA, Duarte MA, Marques ME, Salvadori DM. 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. 2006;101(2):258-61.

Rodriguez Sosa SA. Reação histopatológica do tecido conjuntivo do dorso de ratos irradiado com laser de CO_2 ou de Er:YAG. Araraquara: (Disseração Mestrado) Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista; 2004. p. 98.

Saidon J, He J, Zhu Q, Safavi K, Spångberg LS. Cell and tissue reactions to mineral trioxide aggregate and Portland cement. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2003;95(4):483-9.

Sakai VT, Moretti AB, Oliveira TM, Fornetti AP, Santos CF, Machado MA, et al. Pulpotomy of human primary molars with MTA and Portland cement: a randomised controlled trial. Br Dent J. 2009;207(3):128-9.

Saliba E, Abbassi-Ghadi S, Vowles R, Camilleri J, Hooper S. Evaluation of the strength and radiopacity of Portland cement with varying additions of bismuth oxide. Int Endod J. 2009;42(4):322-8.

Shah PM, Chong BS, Sidhu SK, Ford TR. Radiopacity of potential root-end filling materials. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1996;81(4):476-9.

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

Shahi S, Rahimi S, Yavari HR, Mokhtari H, Roshangar L, Abasi MM, et al. Effect of mineral trioxide aggregates and Portland cements on inflammatory cells. J Endod. 2010;36(5):899-903.

Silveira CMM. Avaliação da biocompatibilidade de 4 cimentos endodônticos: Estudo em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. Ponta Grossa, Paraná: (Dissertação Mestrado) Universidade Estadual de Ponta Grossa; 2008. 81p.

Song JS, Mante FK, Romanow WJ, Kim S. 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. 2006;102(6):809-15.

Tagger M, Katz A. Radiopacity of endodontic sealers: development of a new method for direct measurement. J Endod. 2003;29(11):751-5.

Tanomaru-Filho M, da Silva G, Duarte M, Gonçalves M, Tanomaru J. Radiopacity evaluation of root-end filling materials by digitization of images. J Appl Oral Sci. 2008;16(6):376-9.

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

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

Torabinejad M, Hong C, Lee S, Monsef M, Pitt Ford T. Investigation of mineral trioxide aggregate for root-end filling in dogs. J Endod. 1995b;21(12):603-8.

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

Torabinejad M, Hong C, Pitt Ford T, Kettering J. Antibacterial effects of some root end filling materials. J Endod. 1995d;21(8):403-6.

Torabinejad M, Pitt Ford T, McKendry D, Abedi H, Miller D, Kariyawasam S. Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root-end filling in monkeys. J Endod. 1997;23(4):225-8.

Torabinejad M, Ford T, Abedi H, Kariyawasam S, Tang H. Tissue reaction to implanted root-end filling materials in the tibia and mandible of guinea pigs. J Endod. 1998;24(7):468-71.

Torneck C. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. II. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1967;24(5):674-83.

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

Trindade AC, Oliveira EPMd, Figueiredo JAPd. Análise comparativa da resposta tecidual ao agregado trióxido mineral (MTA) e ao cimento Portland, isolado e acrescido de substância radiopatizante. J Bras Endod; 2003. p. 309-14.

Trowbridge HO, Emling RC. Inflammation: a review of the process. 5 ed. Chicago: Quintessence Books; 1997.

Vivan RR, Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Bernardineli N, Garcia RB, Duarte MA, et al. Evaluation of the radiopacity of some commercial and experimental root-end filling materials. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009;108(6):e35-8.

Vivan RR, Zapata RO, Zeferino MA, Bramante CM, Bernardineli N, Garcia RB, et al. Evaluation of the physical and chemical properties of two commercial and three experimental root-end filling materials. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010;110(2):250-6.

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

Wucherpfennig AL, Green DB. Mineral trioxide vs. Portland cement: two biocompatible filling materials. 1999;25(4):308.

Zeferino EG, Bueno CE, Oyama LM, Ribeiro DA. Ex vivo assessment of genotoxicity and cytotoxicity in murine fibroblasts exposed to white MTA or white Portland cement with 15% bismuth oxide. Int Endod J. 2010;43(10):843-8.

Anexo

ANEXO A – Carta de aprovação no comitê de ética no ensino e pesquisa em animais.

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
Fone: (14)3235-8356
e-mail: mferrari@fob.usp.br

CEEPA-Proc. Nº 006/2009

Bauru, 31 de janeiro de 2011.

Senhor Professor,

Em atenção à solicitação de alteração no título do projeto de pesquisa "**Estudo da reação do tecido subcutâneo de ratos frente à implantação do cimento portland acrescido de diferentes concentrações de radiopacificadores**" de autoria de Marina Angélica Marciano da Silva, CD. Paloma Gagliardi Minotti, CD. Raquel Zanin Midena e CD. Bruno Cavalini Cavenago, sob sua orientação, **para** *AVALIAÇÃO DA REAÇÃO TECIDUAL E DA RADIOPACIDADE DO CIMENTO PORTLAND ACRESCIDO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÓXIDO DE BISMUTO. ESTUDO EM TECIDO SUBCUTÂNEO DE RATOS,* informamos que esta Comissão aprovou *ad referendum*, considerando não haver impedimentos éticos.

Atenciosamente,

P/ Prof. Dr. Gustavo Pompermaier Garlet
Presidente da Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

Prof. Dr. Roberto Brandão Garcia
Docente do Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários