



UNIVERSIDADE ESTADUAL

PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE ODONTOLOGIA - CÂMPUS DE ARAÇATUBA

DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA RESTAURADORA

DISCIPLINA DE ENDODONTIA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Avaliação biológica da compatibilidade de Sealapex® e AH Plus® em espatulação parcial x espatulação completa.

Orientador: Eloi Dezan Junior

Orientado: Gustavo Arcos Lopes

ARAÇATUBA-SP

2013

Resumo

O objetivo deste trabalho foi a avaliação da resposta biológica imediata e tardia dos cimentos AH Plus® e Sealapex® submetidos a espatulação completa ou parcial. Para o teste edemogênico (reação imediata), foram utilizados 24 ratos machos divididos em quatro grupos, AH Plus® parcial e total, e Sealapex® parcial e total. Sob anestesia geral, os animais receberam injeção intravenosa de Azul de Evans 1%. Após 30 minutos foi injetado 0,1mL de Sealapex® ou AH Plus® com espatulação total ou parcial, na região subcutânea dorsal do animal. Os animais foram mortos após 3 e 6 horas e as peças obtidas colocadas em formamida por 72 horas. A leitura foi realizada em espectrofotômetro com comprimento de onda de 630nm. Para a análise microscópica (reação tardia), 20 ratos receberam implantes de tubos de polietileno contendo Sealapex® ou AH Plus® com espatulação total ou parcial na região dorsal, para análise microscópica após 7 e 30 dias em microscópio óptico.

Palavras Chave: Sealapex, AH Plus, processo inflamatório, obturação de canal.

I - Introdução

A terapia endodôntica visa o saneamento do sistema de canais radiculares e a obturação deste com cimento e guta-percha com o objetivo de induzir reparação periapical com a formação de cimento-like¹. A obturação é uma fase importante e necessita de maior cuidado e atenção, uma vez que serão introduzidos nos canais radiculares materiais que ficarão em contato permanente com os tecidos apicais e periapicais². Portanto, ele deve ser inerte, não irritante, biocompatível com os tecidos³ e ainda estimular o reparo.

A biocompatibilidade dos cimentos endodônticos em relação ao tecido periapical é importante para alcançar o sucesso no tratamento de canal. Um cimento endodôntico biocompatível, quando em contato com os tecidos periapicais, não deve atrasar nem prejudicar o processo de reparação tecidual, e sim auxiliar no processo de reparo e regeneração dos tecidos periradiculares lesados^{4,5}.

Os cimentos utilizados juntamente com os cones de guta-percha devem selar hermeticamente o sistema de canais radiculares, promovendo assim o preenchimento de toda luz do canal.

No entanto, apesar do grande número de técnicas e materiais disponíveis⁶⁻⁸ preencher completamente o canal radicular ainda é uma tarefa desafiadora.

Devido aos conhecidos efeitos terapêuticos do hidróxido de cálcio^{9,10,11}, este foi introduzido nos cimentos endodônticos com a finalidade de melhorar suas propriedades biológicas. Dentre os cimentos endodônticos presentes no mercado, o Sealapex® apresenta boa biocompatibilidade^{12,13,14,15} além de eficiente selamento marginal apical¹⁶ e capacidade de induzir o fechamento apical por deposição osteocementária¹⁷.

Tagger et al.¹⁸ estudaram a liberação de íons cálcio e hidroxila de cimentos contendo hidróxido de cálcio, onde foi comprovado que a liberação de cálcio e PH exibidos pelo Sealapex® foi gradual e prolongado sendo medidas nos tempos de 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 e 120 minutos.

Cimentos de união adesiva e resinosos também têm sido desenvolvidos para o uso endodôntico, e podem melhorar a obturação do canal radicular¹⁹.

O AH Plus® (resina epóxi) vem se difundindo muito por apresentar excelentes propriedades físico-químicas e biológicas²⁰⁻²³.

Independente do tipo de cimento o material quando manipulado deve ser homogêneo a fim de promover boa adesividade entre o cimento e a parede do canal²⁴.

No que se refere à adesão, verifica-se nos cimentos disponíveis no mercado, que na maioria deles se obtém uma mistura homogênea, desde que corretamente manipulados²⁵.

Muitos cimentos são apresentados na forma de pó/líquido existindo a possibilidade de grande variação na quantidade dos componentes devido a maior ou menor volume de líquido utilizado para a consistência agradável de trabalho. Para tentar amenizar esta variabilidade alguns cimentos apresentam-se na forma pasta/pasta onde se preconiza a colocação de partes iguais, o que não extingue alguma falha, como a falta de espatulação das pastas podendo resultar em um produto que venha a interferir nas propriedades descritas do cimento.

Devido a possível ocorrência de falha na espatulação do cimento endodôntico, fez-se necessária a avaliação para verificar se a falta da homogeneização decorrente de uma espatulação deficiente das pastas, base e catalizadora, podem interferir na compatibilidade biológica dos cimentos AH Plus® e Sealapex®.

II – Objetivo

Avaliar a influência da espatulação parcial dos cimentos Sealapex® e AH Plus® em sua compatibilidade biológica, utilizando a análise Edemogênica e Microscópica.

III - Material e métodos

3.1 - Animais

Para a realização deste experimento foram utilizados 64 (sessenta e quatro) ratos machos da variedade Wistar (*Rattus norvegicus*) com idade de 2 meses e massa corporal de aproximadamente 300-350 gramas, provenientes do Biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, mantidos durante todo o período experimental com dieta sólida (Guabi Nutrilabor, Mogiana Alimentos SA, Brasil) e água ad libitum. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura entre 22 e 24°C com ciclo de luz controlada (12 horas claro e 12 horas escuro) e em gaiolas coletivas, 5 ratos por gaiola.

3.2. - Método de injeção para o teste edemogênico

Foram empregados 40 animais divididos em 4 grupos, cada um com 10 animais e os grupos subdivididos com 5 animais, para cada período avaliado (03 e 06 horas).

Primeiramente foi realizada medicação pré-anestésica com Xilazina (Coopazine–Coopers), na proporção de 25mg/Kg do animal com injeção na parte posterior da coxa do animal, via intramuscular. Posteriormente, foi realizada anestesia geral com Quetamina (Vetaset – Fort Dodge), na proporção de 50mg/Kg do animal. A seguir, os animais receberam a injeção intravenosa, na veia peniana, de azul de Evans a 1% (Evans Blue Difco Lab.) aplicada com seringa de insulina na proporção de 0,2mL da solução para 100g de massa corporal. (Canova et al.) Figura 1

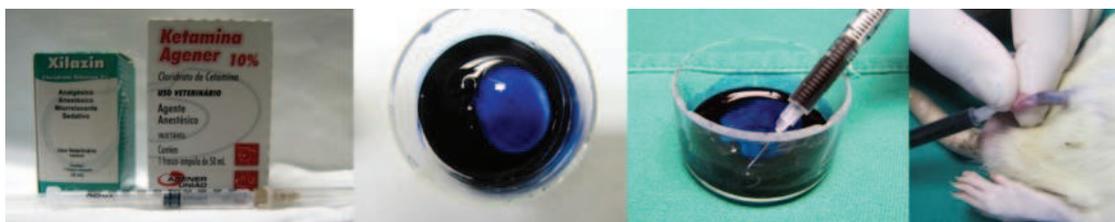


Figura1 : (A) Xilazina e ketamina; (B e C) Azul de Evans; (D) Injeção intravenosa na veia peniana do animal.

Após 30 minutos da injeção do corante, os animais receberam no tecido conjuntivo da região dorsal, com auxílio de seringas hipodérmicas de 1ml e agulhas 25x0,7 descartáveis, 0,2mL do material correspondente. Foi injetado apenas um material em cada animal, na região dorsal, tendo a linha média como referência e próximo à região caudal.

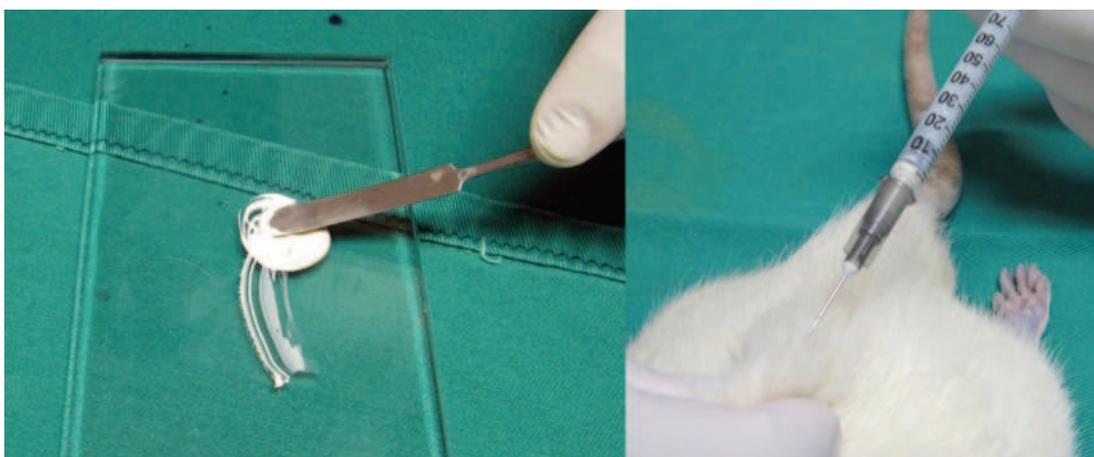


Figura 2: (A) Espatulação do cimento endodôntico; (B) Injeção subcutânea do cimento.

3.2.1. - Sacrifício dos animais e excisão das lesões

Decorridos os períodos experimentais de 3 e 6 horas os animais foram sacrificados por overdose anestésica.

A seguir (figura 3), foi efetuada a tricotomia manual e incisão com tesoura cirúrgica, evidenciando a área de edema por um halo de coloração azul com margem de segurança, divulsão e exérese da peça. A padronização das peças removidas foi realizada por meio de um vazador de ferro com 23 mm de diâmetro.

As peças padronizadas foram picotadas com tesoura cirúrgica e colocadas em frascos contendo 4 ml de formamida (Vetec - Química- RJ – Brasil), permanecendo em estufa a 45°C por 72h.

Decorrido o período de fixação, as soluções foram filtradas com auxílio de gaze hidrófila esterilizada e funil de vidro, e recolhidas para se proceder à análise em espectrofotômetro.



Figura 3: (A) tricotomia manual, (B) Divulsão e exérese, (C) Padronização das peças, (D) Peça padronizada, (E) Peça picotada, (F) Após peça recortada depois de 72 horas em estuda e filtrada em gaze.

3.2.2. - Leitura das peças em espectrofotômetro

A leitura do filtrado foi realizada em espectrofotômetro Cary 50 Bio (Varian), utilizando ondas com comprimento de 630nm , correspondente ao pico máximo de absorção do corante (Canova et al). Para a transformação da leitura de Absorbância (Abs) para micrograma (μg) do corante extravasado, realizou-se a curva padrão de absorbância de azul de Evans $1\%/\mu\text{g}$ de azul de Evans.



Figura 4 :Espectrofotômetro utilizado para leitura do filtrado.

3.3 - Implante de tecido subcutâneo – reação tardia

Foram utilizados 20 animais, divididos em dois períodos de 7 e 30 dias. Cada animal recebeu quatro implantes sendo:

Grupo I – Sealapex® Espatulação Parcial

Grupo II - Sealapex® Espatulação Total

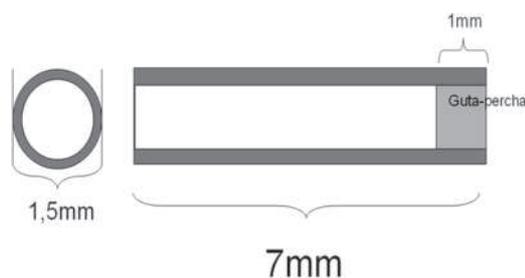
Grupo III - AH Plus® Espatulação Parcial

Grupo IV - AH Plus® Espatulação Total

A espatulação foi julgada parcial quando realizada uma leve mistura das pastas onde se via estrias das cores de cada pasta, e julgada homogênea quando feita uma mistura efetiva onde, observou-se uma coloração única das pastas.

3.3.1 - Obtenção dos tubos de polietileno

Foram confeccionados tubos de polietileno a partir de cortes de sonda uretral número 4 (Mac Med, São Paulo, Brasil), com 1,5mm de diâmetro externo e 7,0mm de comprimento, segundo a norma ISO 10993-6 2007³¹, os quais serviram para acomodação dos materiais experimentais.



Tubo para implante

.Figura 5 : Esquema do tubo de polietileno para o implante.

3.3.2- Procedimentos cirúrgicos para implante

Após depilação da área dorsal e antissepsia com polivinilpirrolidona a 1% (Riodente, Rioquímica, São José do Rio Preto, Brasil), foi realizada uma incisão longitudinal com lâmina de bisturi número 15_C acompanhando a linha mediana, com extensão de 1 cm atingindo o tecido subcutâneo. Desta forma, do lado direito e esquerdo foi implantado, no tecido subcutâneo dos animais, com o auxílio de um trocarte, os tubos de polietileno contendo os cimentos preparados parcialmente (G1 e G3) e os preparados homoganeamente (G2 e G4).(figura 15).

A incisão longitudinal da pele foi então suturada com fio de seda 4-0 (Ethicon, Johnson & Johnson).

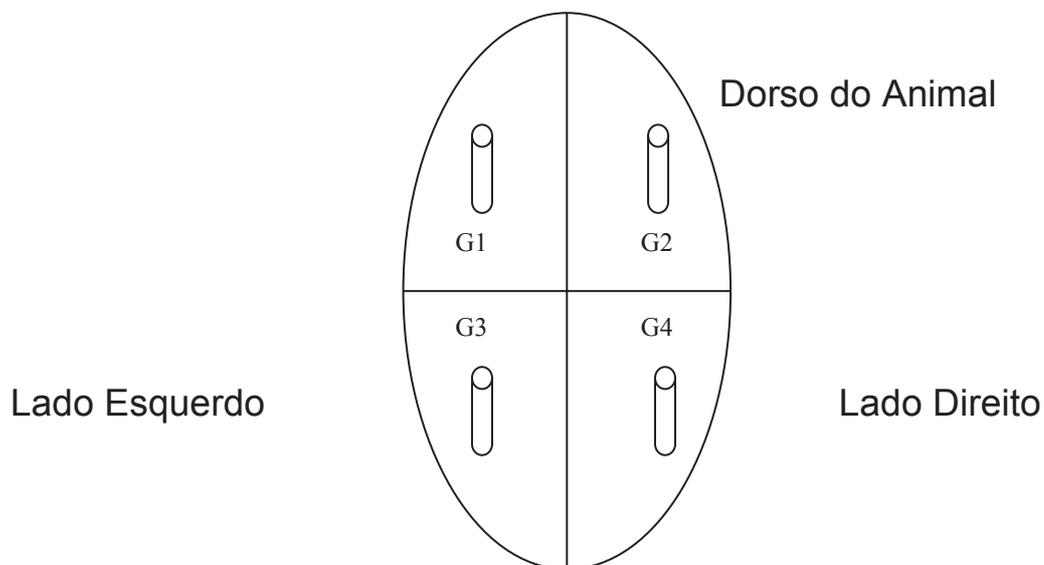


Figura 6 - esquema do dorso do rato com os sítios cirúrgicos que receberam cada implante de polietileno com os grupos experimentais.

3.3.3 - Obtenção dos resultados

Os animais foram sacrificados aos 07 e 30 dias para obtenção das peças contendo o tubo de polietileno, circundado por tecido conjuntivo adjacente. Uma vez removidos, os tecidos foram fixados em formol a 10%, por 48 horas e lavadas em água corrente por 5 horas. As peças foram então

desidratadas, clarificadas e incluídas em Histoiresina (Histoiresin Leica), sendo orientadas de maneira a permitir cortes histológicos do implante em seu sentido longitudinal. Os cortes foram realizados com 3 micrometros de espessura e corados com Hematoxilina e Eosina para análise microscópica.

Os resultados foram obtidos por meio da leitura dos espécimes em microscópio óptico das respostas teciduais tardias induzidas pelos cimentos testados comparadas ao grupo controle, num aumento de 10x para a medição da espessura de cápsula fibrosa, e num aumento de 40x para a contagem do número de células inflamatórias que quantifica o infiltrado inflamatório, sendo avaliada apenas uma das extremidades do implante que os cimentos ficaram em contato com o tecido.

Foi realizada uma análise descritiva dos dois grupos experimentais e uma análise quantitativa.

Quanto à espessura da cápsula fibrosa, os seguintes escores foram utilizados: escore 0 (zero) para cápsula fibrosa considerada fina, de espessura inferior a 150 μ m ou escore 3 para cápsula fibrosa considerada espessa, superior a 150 μ m^{51,52}.

A avaliação da irritação tecidual produzida pelas pastas de Sealapex® foi realizada segundo critérios descrito por Bernabé et al.⁵³ e pelo Federation Dentaire International Commission of Dental Materials, Instruments, Equipment and Therapeutics⁵⁴. Desta forma, o infiltrado inflamatório presente, do tipo crônico ou agudo, foi assinalado em conformidade com o número aproximado de células inflamatórias presentes em aumento de 40X. A ausência de células inflamatórias recebeu escore 0 (zero). Quando o número de células inflamatórias for inferior a 25, o infiltrado inflamatório foi considerado pequeno (escore 1). O critério moderado (escore 2) foi atribuído quando detectadas de 25 a 125 células inflamatórias. No caso de um número superior a 125, o infiltrado inflamatório foi considerado severo ou intenso (escore 3).

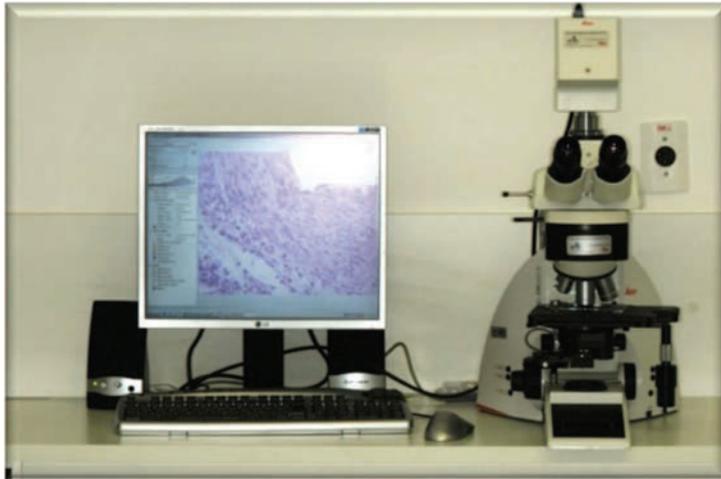


Figura 7: Microscópio Óptico utilizado para leitura das lâminas e captura das imagens.

IV - Resultados

4.1 – Teste Edemogênico

Os resultados obtidos pela medição do edema proporcionado pelos grupos experimentais encontra-se expresso no quadro 1 e suas média no quadro 2. Estes dados foram submetidos à análise de variância a 3 critérios de variação, cimento, tempo e espatulação.

Quadro 1 : Valores médios da quantificação do edema ocorrido nos grupos experimentais.

Grupo	tempo	3 Horas	6 Horas	3 Horas Ah	6 Horas Ah
		Sealapex	Sealapex	Plus	Plus
Parcial		Rato 1 - 0.538	Rato 1 – 0.329	Rato 1 – 1.401	Rato 1 – 1.022
		Rato 2 - 0.372	Rato 2 – 0.414	Rato 2 – 1.726	Rato 2 – 1.868
		Rato 3 - 0.486	Rato 3 – 0.539	Rato 3 – 2.039	Rato 3 – 0.867
		Rato 4 - 0.430	Rato 4 – 0.358	Rato 4 – 0.756	Rato 4 – 1.581
		Rato 5 - 0.427	Rato 5 – 0.449	Rato 5 – 0.739	Rato 5 – 0.956
		Rato 6 - 0.687	Rato 6 – 0.483	Rato 6 – 1.332	Rato 6 – 1.536
Total		Rato 1 – 0.336	Rato 1 – 0.288	Rato 1 – 1.154	Rato 1 – 1.574
		Rato 2 – 0.347	Rato 2 – 0.313	Rato 2 – 0.969	Rato 2 – 1.466
		Rato 3 – 0.428	Rato 3 – 0.312	Rato 3 – 0.816	Rato 3 – 1.110
		Rato 4 – 0.467	Rato 4 – 0.259	Rato 4 – 0.857	Rato 4 – 1.860
		Rato 5 – 0.551	Rato 5 – 0.378	Rato 5 – 0.529	Rato 5 – 1.510
		Rato 6 – 0.399	Rato 6 – 0.310	Rato 6 – 0.865	Rato 6 – 1.121

Quadro 2 : Médias de cada grupo experimental do teste edemogênico.

	3 horas Sealapex®	6 horas Sealapex®	3 horas AH Plus®	6 horas AH Plus®
parcial	0.49	0.428	1.332	1.305
total	0.421	0.31	0.865	1.440

O cimento Sealapex® causou menor edema que o cimento AH Plus (p=0,05) nos dois períodos experimentais sem qualquer influência da espatulação parcial ou total e do tempo (p>0,05).

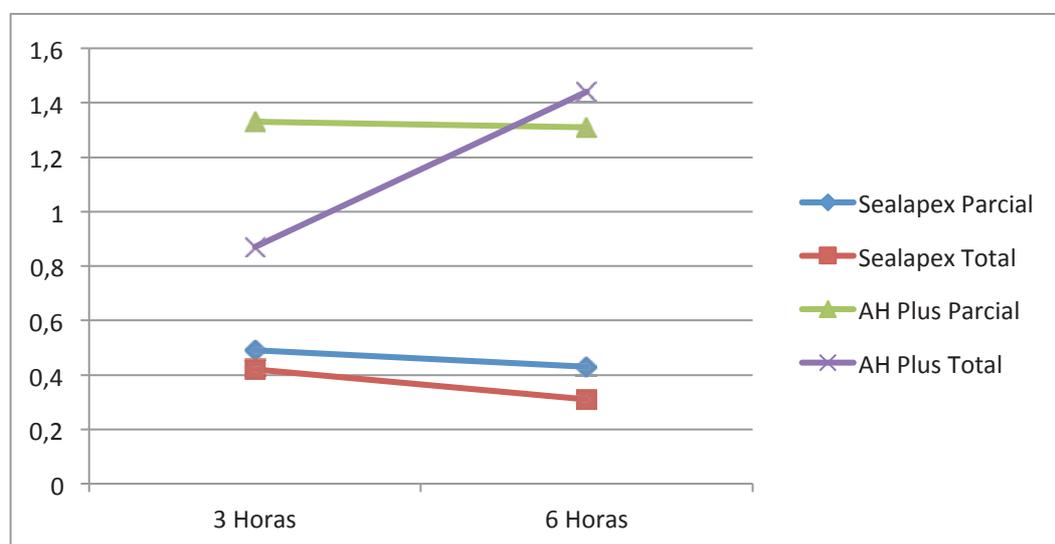


Gráfico 1 representação da média de edema gerada pelos cimentos com espatulação parcial ou total nos períodos de 3 e 6 horas.

4.2 Implante Subcutâneo – Reação Tardia

Faremos agora uma descrição das características mais presentes nos grupos experimentais.

Grupo controle 7 dias

Inflamação pouco presente. Apresentou células inflamatórias esparsas com escore de infiltrado inflamatório classificado com moderado, (de 25 a 125 células inflamatórias). A cápsula mostrou-se espessa com mais de 150 micrometros.

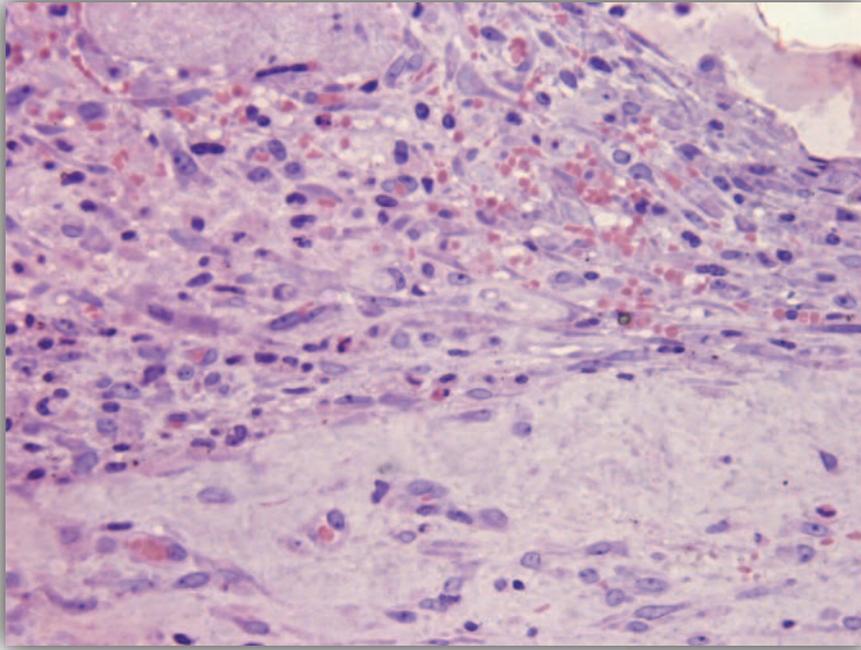


Figura 8 : espécime ilustrativo do grupo controle, tubo vazio, 7 dias.

Grupo controle 30 dias

Inflamação pouco pronunciada com infiltrado inflamatório crônico discreto. O escore para infiltrado inflamatório foi classificado como pequeno com menos de 25 células inflamatórias (escore 1). A cápsula também foi classificada como fina, menor que 150 micrometros.

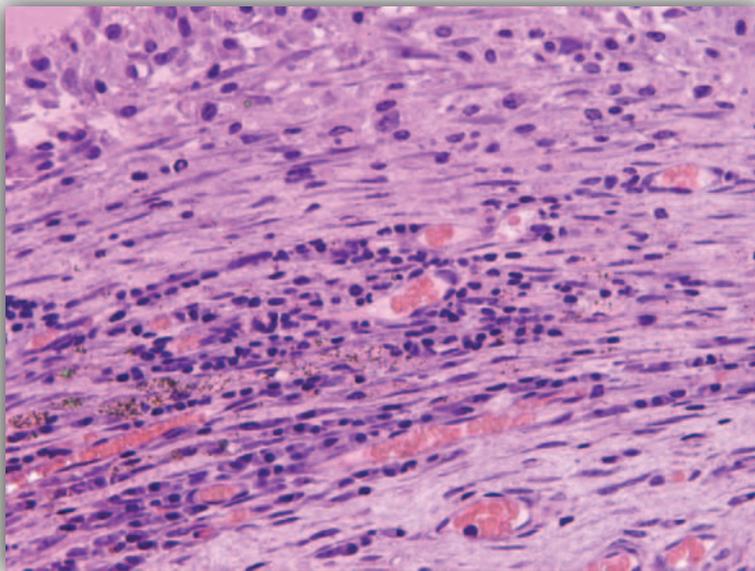


Figura 9 : espécime ilustrativo do grupo controle, tubo vazio, 30 dias.

Grupo Sealapex® parcial 7 dias

O infiltrado inflamatório é esparsos, com a maioria dos escores 2 situando-se no limite da marca necessária para o escore. No caso da foto foi observado infiltrado inflamatório moderado classificado como escore 2. A cápsula fibrosa mostrou-se espessa (com mais de 150 micrometros).

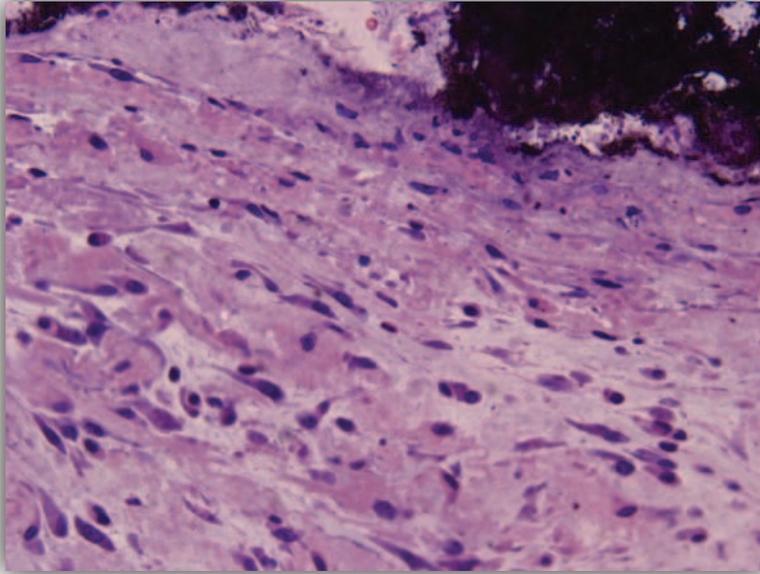


Figura10: espécime ilustrativo do grupo Sealapex parcial 7 dias.

Grupo AH Plus® parcial 7 dias

Predomínio de Células Inflamatórias crônicas acompanhadas por macrófagos que tentam reabsorver o material. A inflamação não é exuberante, visto o pequeno número de células presentes em grande parte dos espécimes. No caso o infiltrado inflamatório foi classificado como moderado (entre 25 e 125 células inflamatórias). Já a cápsula fibrosa foi fina (menor que 150 micrometros).

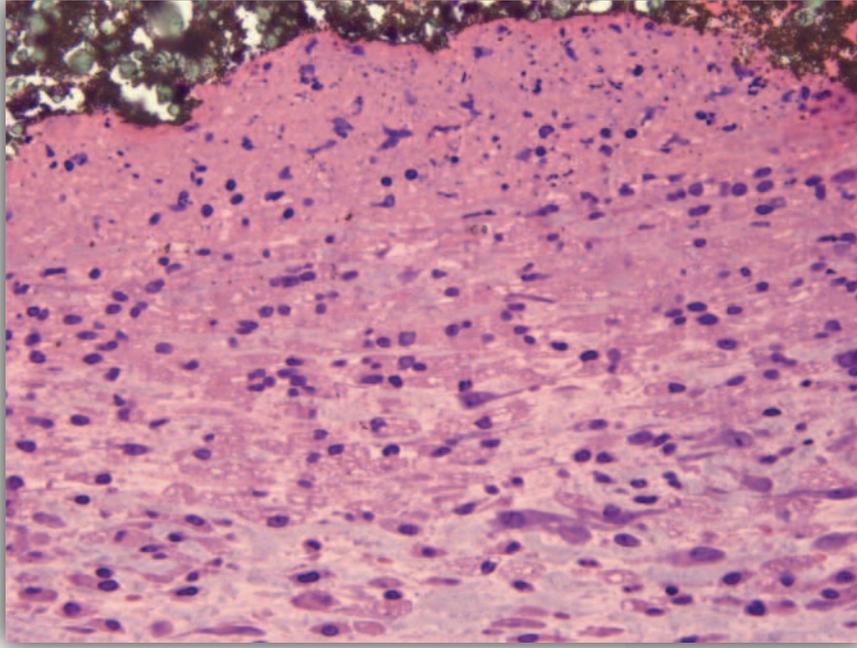


Figura 11 : espécime ilustrativo do grupo AH Plus parcial 7 dias.

Grupo Sealapex® total 7 dias

Observou-se que em alguns espécimes houve extravasamento do cimento endodôntico, o que causou um aumento do processo inflamatório, porém nos espécimes onde não houve foi observado poucas células inflamatórias agudas e dispersas (escore 1). Foram encontrados macrófagos contendo em seu interior o cimento. A cápsula fibrosa na maioria dos casos onde não houve extravasamento demonstrou-se fina, menor que 150 micrometros, (escore 0). No caso da foto a cápsula foi classificada como espessa (maior que 150 micrometros).

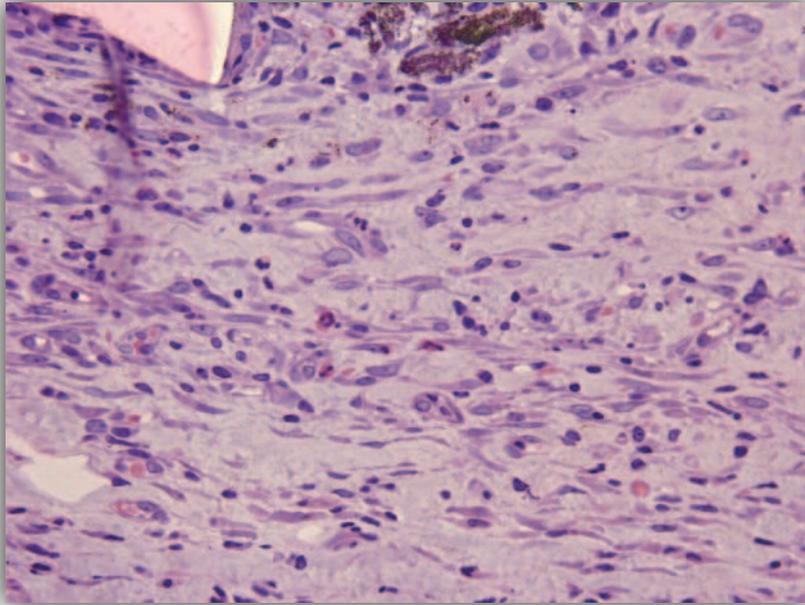


Figura 11: espécime ilustrativo do grupo Sealapex total 7 dias.

Grupo AH Plus® total 7 dias

Presença de esparso infiltrado inflamatório na cápsula frente ao material analisado. No caso da foto o infiltrado foi classificado como moderado, entre 25 e 125 células inflamatórias (escore 2) e a cápsula foi caracterizada como fina (menor que 150 micrometros).

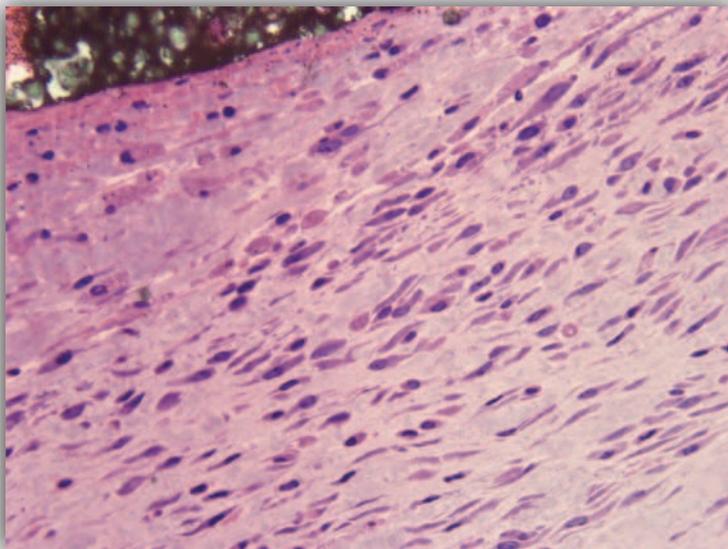


Figura 12: espécime ilustrativo do grupo AH Plus total 7 dias.

Grupo Sealapex® parcial 30 dias

Pôde-se observar que na maioria dos espécimes houve o extravasamento do material testado, levando assim a uma reação inflamatória mais persistente na área, nesses espécimes o numero de células inflamatórias foi alto, incluindo muitos macrófagos com cimento endodôntico em seu interior, porém os macrófagos só estão presentes nas áreas de material extravasado e também a cápsula fibrosa encontrou-se mais espessa. Já nos espécimes que não houve extravasamento ocorreu o reparo da área, apresentando poucas e dispersas células inflamatórias e muitos fibroblastos, caracterizando reparação, além da cápsula fibrosa ser mais fina.

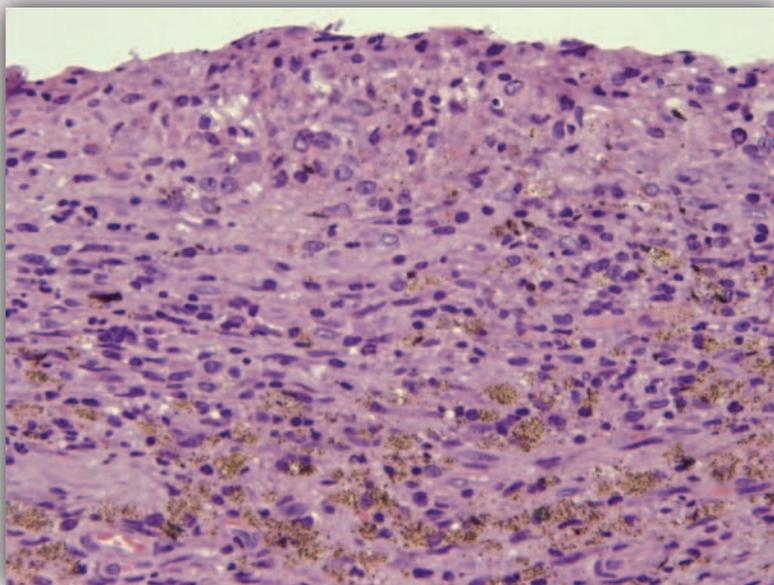


Figura 13: espécime ilustrativo do grupo Sealapex parcial 30 dias.

Grupo AH Plus® parcial 30 dias

A inflamação crônica encontra-se mais pronunciada com presença de macrófagos reabsorvendo o material. Notar o intenso infiltrado crônico composto por linfócitos e esparsos plasmócitos, e a presença de macrófagos com material fagocitado. O escore das células ficou entre 2 e 3, Já a cápsula fibrosa variou também de acordo com o espécime, os que não houveram extravasamento mantiveram uma cápsula fina na maioria das vezes.

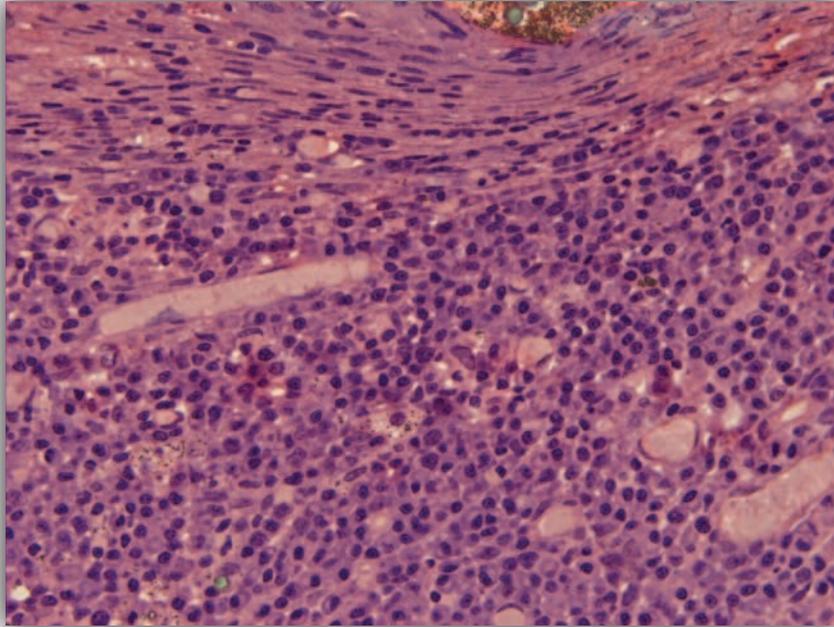


Figura 14: espécime ilustrativo do grupo AH Plus parcial 30 dias.

Grupo Sealapex® total 30 dias

Inflamação semelhante ao grupo 7D em condições normais do espécime (sem extravasamento) baixo número de células inflamatórias, além de estarem dispersas, em sua maioria macrófagos, linfócitos, plasmócitos e eosinófilos, e grande quantidade de fibroblastos, mantendo o escore 1 (abaixo de 25 células inflamatórias) em dois espécimes. A cápsula fibrosa manteve-se espessa em todos os espécimes (escore 3).

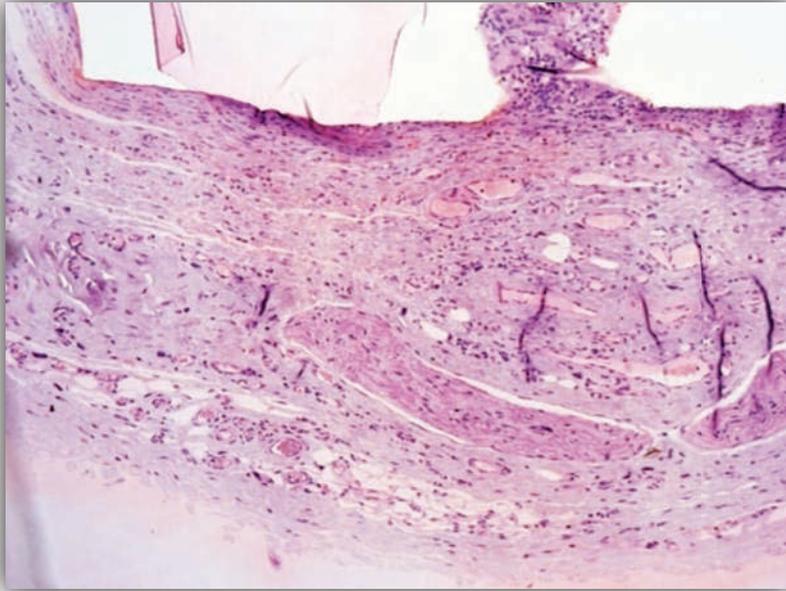


Figura 15: espécime ilustrativo do grupo Sealapex total 30 dias.

Grupo AH Plus® total 30 dias

Na maioria dos espécimes a inflamação foi menos pronunciada, aproximando-se do limite inferior do escore. Há presença de macrófagos fagocitando o material, mas nos espécimes sem extravasamento a inflamação é discreta, com infiltrado crônico.

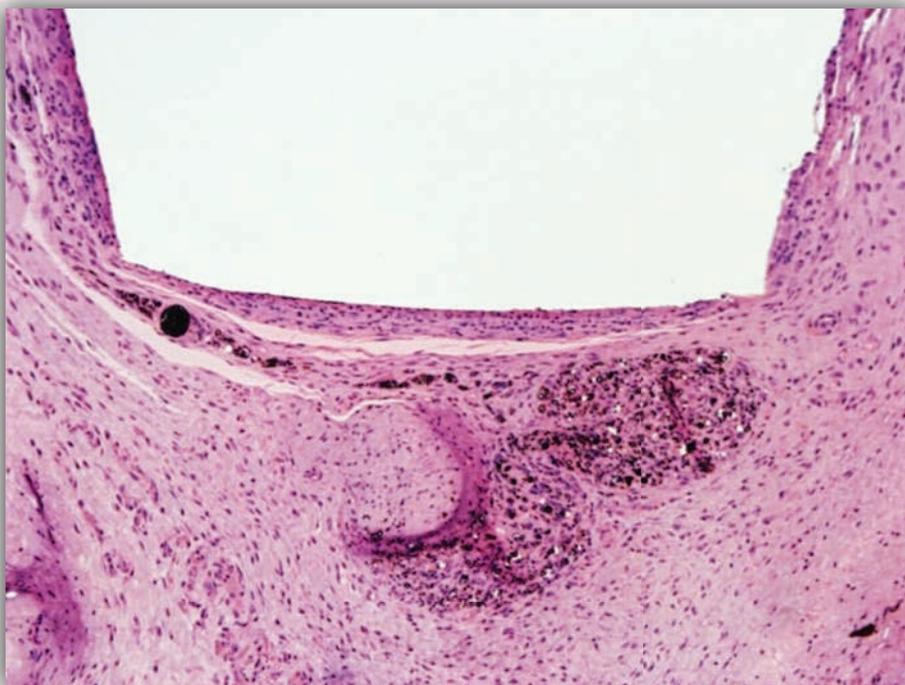


Figura 16: espécime ilustrativo do grupo AH Plus total 30 dias.

Os escores obtidos foram submetidos ao teste de Kruskal Wallis para comparação dos grupos experimentais e de Mann Whitney para comparação dois a dois.

Com a análise estatística dos dados verificou-se evolução do processo de reparo com o passar do tempo 7 e 30 dias ($p < 0,05$).

Não se verificou diferença entre os cimentos avaliados, independentemente do tempo e condição de espatulação ($p > 0,05$), como também não houve influência da qualidade da espatulação, parcial ou total ($p = 0,32$).

No período de 30 dias houve apenas uma diferença entre os grupos de espatulação parcial favorável ao AH Plus ($p = 0,05$).

V – Discussão

5.1 – Teste Edemogênico

Os ratos albinos (Linhagem Wistar) são muito utilizados sem experimentos na área médica e odontológica, principalmente em trabalhos que estudam a reparação pós-exodôntica (GALLOTTINI, 1989)²⁶. Além disso, são animais de fácil obtenção, manuseio e manutenção. Mittal et al (1995)²⁷ afirmam que o rato é animal menos susceptível a infecções pós-operatórias do que o cão. Outro fator citado pelo autor, é que se trata de um método mais econômico para determinação da biocompatibilidade tecidual.

Um dos sinais cardinais da Inflamação é o edema, resultado do aumento da permeabilidade vascular. Isto acontece quase que imediatamente após o insulto. Nos tecidos saudáveis a barreira tissular do sangue é livremente permeável à água, eletrólitos, e pequenas moléculas, porém, pouco permeável a proteínas. Devido ao aumento de permeabilidade, observa-se a passagem de plasma do interior dos vasos para a matriz extra-celular, juntamente com proteínas, caracterizando o exsudato ou edema inflamatório. Corantes vitais, como o Azul de Evans, quando administrados intravenosamente, têm capacidade de se ligar a proteínas plasmáticas, principalmente a albumina, e a presença deste corante nos locais edemaciados, permite estimar a intensidade

da agressão (RUTBERG et al. 1997;²⁸ TAVEIRA, 1988)²⁹ e assim quantificar a resposta tecidual frente aos cimentos endodônticos testados.

Segundo Rutberget al. (1997)²⁸ o mecanismo de implantação subcutânea e exame histopatológico podem acarretar em inflamação, devido ao trauma cirúrgico gerado. O teste edemogênico seria uma maneira mais segura de se testar a biocompatibilidade de materiais odontológicos, através da quantificação do edema (CANOVA et al. 2002)³⁰. Segundo Hidalgo et al. (1999)³¹ este é um método adequado para avaliação da compatibilidade biológica. Através desta técnica pode-se observar o efeito de certas substâncias injetadas pela presença de edema circunscrito de coloração azulada, evidenciando aumento da permeabilidade vascular induzido pelas mesmas.

Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que não há diferença significativa quando os cimentos são espatulados parcialmente, não alterando de forma exacerbada o edema proporcionado pelos mesmos.

O cimento Sealapex® causou menor edema que o cimento AH Plus (p=0,05) nos dois períodos experimentais sem qualquer influência da espatulação parcial ou total (p>0,05).

A maioria dos cimentos a base de resina, como o AH Plus®, tem demonstrado efeitos irritantes de leve a moderado³².

Devido a sua complexa composição química, numerosas substâncias podem ser liberadas do AH Plus® para os tecidos adjacentes e poder induzir efeitos adversos locais e ou sistêmicos, incluindo genotoxicidade ou citotoxicidade (Leyhausen et al. 1999)³³.

O cimento Sealapex® é a base de hidróxido de cálcio. Cimentos contendo hidróxido de cálcio serão biologicamente ativos quando os íons de cálcio de hidróxido são liberados³⁴. A difusão dos íons de hidroxila dos cimentos endodônticos aumenta o PH na superfície do canal adjacente ao tecido periodontal, favorecendo o reparo. Estes cimentos a base de hidróxido de cálcio são usados para um melhor processo de cura³⁵.

A aplicação clínica do Teste Edemogênico está relacionada principalmente a verificação da reação inicial dos tecidos periapicais frente a um extravasamento de material obturador.

5.2 - Implante em subcutâneo de ratos

Vários métodos têm sido utilizados para avaliar a biocompatibilidade de cimentos endodônticos. Um dos mais práticos métodos utilizados é a implantação de material no tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. O efeito irritante dos materiais pode ser avaliado pelo exame histopatológico da resposta tecidual ao redor dos implantes^{36,37}.

O implante de tubos de polietileno em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos tem sido amplamente aceito como um importante teste secundário para testar a biocompatibilidade de cimentos endodônticos³⁸. O tubo de polietileno em si não provoca uma irritação persistente e material testado tende a não se espalhar para a área circundante, levando a um controle preciso da quantidade de material em contato direto para os tecidos³⁹⁻⁴².

Uma vez que as reações tóxicas e inflamatórias apresentam as mesmas características em todos os tecidos conjuntivos⁴³⁻⁴⁵, os implantes em tecido conjuntivo subcutâneo são usados para avaliar a resposta biológica ao do material implantado⁴⁶, sendo uma fonte preliminar de informações sobre a compatibilidade biológica do material.

Sete dias x Trinta dias

Os espécimes comparados entre os diferentes tempos experimentais apresentaram diferentes infiltrados inflamatórios, foi observado nos espécimes de 7 dias, maioria de neutrófilos e plasmócitos e alguns macrófagos, além da alteração de volume sanguíneo e do calibre dos vasos.

A cápsula fibrosa mostrou-se mais delgada nos espécimes de 7 dias, independentemente do material e espatulação apresentados.

Já os espécimes de 30 dias apresentaram infiltrado inflamatório do tipo crônico caracterizado pela presença de grande quantidade de macrófagos, linfócitos, eosinófilos e o aumento de fibroblastos, demonstrando reparação tecidual, reparação com tecido conjuntivo fibroso, além da formação de novos vasos (angiogênese). Nos casos de 30 dias onde não houve extravasamento do material, o reparo evoluiu de forma adequada com o tempo.

A cápsula fibrosa nos espécimes de 30 dias foi classificada em sua maioria como espessa, pois no tempo experimental de 30 dias houve mais casos com extravasamento de cimento testado em vários espécimes, tornando assim o quadro inflamatório mais acentuado.

Espatulação: Total x Parcial

Observou-se não haver diferença entre os cimentos espatulados total e parcialmente. Este fato em primeira análise pode causar certa estranheza, mas pode ser explicado por duas possibilidades.

Os dois cimentos testados, quando completamente manipulados, apresentam componentes finais bastante conhecidos pela compatibilidade biológica e são bastante estudados na literatura. Consideramos que os componentes das pastas individualmente também sejam biocompatíveis, embora não tenham sido testados individualmente, pois não tem aplicabilidade clínica.

Outra hipótese a ser considerada é que tanto para o teste edemogênico quanto para o preenchimento dos tubos de polietileno o cimento preparado com espatulação parcial foi acondicionado em seringas hipodérmicas de 1ml e passou por uma agulha 25x0,7. Este fato por si pode acarretar em uma continuidade da mistura das pastas levando a uma maior homogeneização.

AH Plus x Sealapex

Os cimentos Sealapex® e AH Plus® apresentaram resultados bastante semelhantes, nesta análise no período máximo de 30 dias, fato que não gera estranheza, visto que são cimentos biocompatíveis. Provavelmente se fossem analisados períodos posteriores a 60 dias encontrar-se-ia mineralização para o cimento Sealapex.

Conclusão

Pela metodologia empregada pode se chegar as seguintes conclusões:

- Não houve influência da espatulação parcial ou total;
- Os cimentos Sealapex e AH Plus apresentaram resultados semelhantes.

Referencias Bibliográficas

1. Silveira CM, Pinto SC, ZedebiskiRde A, Santos FA, Pilatti GL. Braz Dent J. 2011;22(1):21-7.

2. Leonardo M, Silva L. Medicação tópica entre sessões, “curativo de demora” em biopulpectomia e necropulpectomias I e II. In: Leonardo MR, Leal JM Endodontia: tratamento de canais radiculares. 3ª ed. São Paulo: Ed. Medica Panamericana; 1998.

3. Spangberg L. Biologic effects of root filling materials. Experimental investigation of the toxicity of root canal fillingmaterials “*in vitro*” and “*i n vivo*”. Odontol Revy 1969;20:5-32.

4. Al-Awadhi S, Spears R, Gutmann JL, Opperman LA. Cultured primary osteoblast viability and apoptosis in the presence of root canal sealers. J Endod 2004;30:527–33.

5. Leonardo MR. Endodoncia: tratamiento de conductos radiculares. Principios técnicos y biológicos. São Paulo: Artes Médicas-Latino América; 2005:503– 6.

6. Leonard JE, Gutmann JL, Guo IY. Apical and coronal seal of roots obturated with a dentine bonding agent and resin. Int Endod J 1996;29:76–83.

7. Rawlinson A. Sealing root canals with low-viscosity resins in vitro: a scanning electron microscopy study of canal cleansing and resin adaption. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1989;68:330–8.

8. Schwartz RS. Adhesive dentistry and endodontics. Part 2: bonding in the root canal system: the promise and the problems: a review. J Endod 2006;32:1125–34.

9. Foreman PC, Barnes IE. A review of calcium hydroxide. IntEndod J. 1990 Nov.; 23(6):283-97.

10. Silva LAB. Rizogênese incompleta: efeito dos curativos de “demora” e “expectante”, no tratamento de canais radiculares de dentes de cães com reação periapical crônica. Avaliação radiográfica e histológica [tese]. Araraquara: Faculdade de Odontologia de Araraquara; 1991.

11. Sjogren U, Figdor D, Spangberg L, Sundqvist G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *IntEndod J*. 1991 May; 24(3): 119-25.
12. Leal JM, Holland R, Esberard RM. Sealapex, CRCS, Fill Canal e N-Rickert: estudo da biocompatibilidade em tecido conjuntivo subcutâneo do rato. *OdontolClin*. 1988 jan./mar.; 2(1): 7-14.
13. Leonardo MR, Silva LAB, Utrilla LS, Assed S, Ether SS. Calcium hydroxide root canal sealers: histopathologic evaluation of apical and periapical repair after endodontic treatment. *J Endod*. 1997 July; 23(7): 428-33.
14. Yesilsoy C, Koren LZ, Morse DR, Kobayashi C. A comparative tissue toxicity evaluation of established and newer root canal sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1988 Apr.; 65(4): 459-67.
15. Zmener O, Cabrini RL. Effects of three calcium hydroxide-based materials on human blood monocytes and lymphocytes. *EndodDentTraumatol*. 1987 Feb.; 3(1): 28-32.
16. Valera MC, Leonardo MR, Bonetti Filho I. Cimentos endodônticos-selamento marginal apical imediato e após armazenamento de seis meses. *RevOdontolUniv São Paulo*. 1998 out./dez.; 12(4): 355-60.
17. Kunert IR, Bertschinger B. Uso de uma solução de Dehyquart-A na irrigação de canais radiculares. *Rev Bras Odontol* 1976; 33:381-2
18. zuolo M, Murguel CAE, Pércora JD, Antoniazzi JH, Costa WF. Ação do EDTA e suas associações com tensoativos na permeabilidade da dentina radicular. *Rev Odont USP* 1987; 1:18-23
19. Weis MV, Parashos P, Messer HH. Effect of obturation technique on sealer cement thickness and dentinal tubule penetration. *IntEndod J* 2004;37:653-63.
20. Azar NG, Heidari M, Bahrami ZS, Shokri F. In vitro cytotoxicity of a new epoxy resin root canal sealer. *J Endod* 2000;26:462-5.
21. Kooper PMP, Figueiredo JAP, Bona AD, Vanni JR, Bier CA, Bopp S. Comparative in vivo analysis of the sealing ability of three endodontic sealers in post-prepared root canals. *Int Endod J* 2003;36:857-63.
22. McMichen FRS, Pearson G, Rahbaran S, Gulabivala K. A comparative study of selected physical properties of five root-canal sealers. *Int Endod J* 2003;36:629-35.

23. Schafer E, Zandbiglari T. Solubility of root canal sealers in water and artificial saliva. *Int Endod J* 2003;36:660-9.

24. Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidinegluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *IntEndod J* 2001; 34:424-28.

25. Estrela, Carlos. *Ciência Endodôntica /Carlos Estrela.* – São Paulo: Artes Médicas, 2004.1010p;28cm.

26. GALLOTTINI, M. H. C. *Influência da pasta composta por Rifocort, iodofórmio e paramonoclorofenol canforado na reparação alveolar: estudo morfológico em ratos.* 1989. 72f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989.

27. MITTAL, M.; CHANDRA, S.; CHANDRA, S. Comparative tissue tolerance toxicity evaluation of four endodontic sealers. *J. Endod.*, v. 21, n. 12, 622-624, Dec. 1995.

28. RUTBERG, M.; SPANGBERG, E.; SPANGBERG, L. Evaluation of enhanced vascular permeability of endodontic medicaments in vivo. *J Endod.*, v. 3, n. 9, p. 347-351, Sept. 1997.

29. TAVEIRA, L. A. A. *Estudo do poder flogógeno da placa dental íntegra e tratada com diferentes soluções extratoras.* 1988. 152f. Dissertação (Mestrado)- Universidade de São Paulo- Faculdade de Odontologia, Bauru, 1988.

30. CANOVA, G. C. et al. Estudo do poder flogógeno de quatro cimentos obturadores de canais radiculares por meio do teste edemogênico. *Rev. Fac. Odontol. Bauru*, v. 10, n.3, p. 128-133, jul/set. 2002.

31. HIDALGO, M. M. et al. Avaliação da tolerância tecidual a algumas substâncias utilizadas como curativo de demora no tratamento endodôntico. *Rev Fac Odontol Lins*, v.11, n.2, p.5-9, jan/fev. 1999.

32. Leonardo MR, Silva LAB, Filho MT, da Silva RS (1999b) Release of formaldehyde by 4 endodontic sealers. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* 88, 221–5.

33. Leyhausen G, Heil J, Reifferscheid G, Waldmann P, Geurtsen W (1999) Genotoxicity and cytotoxicity of the epoxy resinbased root canal sealer AH plus. *Journal of Endodontics* 25, 109–13.

34. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Junior O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J* 1995;6:85-90.
35. Gomes-Filho JE, Bernabé PFE, Nery MJ, Otoboni-Filho JA, Dezan- Junior E, Costa MMTM, et al.. Reaction of rat connective tissue to a new calcium hydroxide based sealer. *Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;106:e71-e76.
36. Zmener O, Guglielmotti MB, Cabrini RL. Biocompatibility of twocalcium hydroxide-based endodontic sealers: a quantitative studyin the subcutaneous connective tissue of the rat. *J Endod* 1988;14:229-235.
37. Economides N, Kotsaki-Kovatsi VP, Pouloupoulos A, Kolokuris I, Rozos G, Shore. Experimental Study of the biocompatibility offour root canal sealers and their influence on the zinc and calciumcontent of several tissues. *J Endod*1995;21:122-127.
38. Stanford JW. Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. *Int Endod J* 1980;30:140-188.
39. Spangberg L. Biologic effects of root filling materials. Experimental investigation of the toxicity of root canal filling materials “*in vitro*” and “*in vivo*”. *Odontol Revy* 1969;20:5-32.
40. Zmener O, Guglielmotti MB, Cabrini RL. Biocompatibility of two calcium hydroxide-based endodontic sealers: a quantitative study in the subcutaneous connective tissue of the rat. *J Endod* 1988;14: 229-235.
41. Economides N, Kotsaki-Kovatsi VP, Pouloupoulos A, Kolokuris I, Rozos G, Shore R. Experimental Study of the biocompatibility of four root canal sealers and their influence on the zinc and calcium content of several tissues. *J Endod* 1995;21:122-127.
42. Costa CAS, Teixeira HM, Nascimento ABL, Hebling J. Biocompatibility of two current adhesive resins. *J Endod* 2000;26:512-516.
43. Zmener O, Guglielmotti MB, Cabrini RL. Biocompatibility of two calcium hydroxide-based endodontic sealers: a quantitative study in the subcutaneous connective tissue of the rat. *J Endod* 1988;14:229-235.
44. Sumer M, Muglali M, Bodrumlu E, Guvenc T. Reactions of connective tissue to amalgam, intermediate restorative material, mineral trioxide aggregate, and mineral trioxide aggregate mixed with chlorhexidine. *J Endod* 2006;32:1094-1096.
45. Zafalon EJ, Versiani MA, de Souza CJ, Moura CC, Dechichi P. *In vivo* comparison of the biocompatibility of two root canal sealers implanted into the

subcutaneous connective tissue of rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;103:e88-e94.

46. International Standard ISO 10993-6. Biological evaluation of medical devices- Part 6: Tests for local effects after implantation. 1994:1-11.

47. Berbert FLCV, Leonardo MR, Silva LAB, Filho MT, Bramante CM. Influence of root canal dressings and sealers on repair of apical periodontitis after endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002;93:184-9.

48. Huang FM, Tai KW, Chou MY, Chang YC. Cytotoxicity of resin-zinc oxide-eugenol and calcium hydroxide based root canal sealers on human periodontal ligament cells and permanent V79 cells. *Int Endod J* 2002;35:153-8.

49. Miletic I, Devicic N, Anic I, Borcic J, Karbavic Z, Osmk M. The cytotoxicity of RoekoSeal and AH Plus compared during different setting periods. *J Endod* 2005;31:307-9.

50. Veloso HH, Santos RA, Araújo TP, Leonardi DP, Baratto Filho F. Histological analysis of the biocompatibility of three different calcium hydroxide-based root canal sealers. *J Appl Oral Sci* 2006;14:376-381.

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

52. Yaltirik M, Ozbas H, Bilgic B, Issever H. Reactions of connective tissue to mineral trioxide aggregate and amalgam. *J Endod* 2004;30(2):95-9.

53. Bernabé PF, Holland R, Paiva JG, Souza V, Nery MJ, Mello W. Behaviour of the subcutaneous connective tissue to the implantation of some materials employed in retrograde filling. *Rev Fac Odontol Araçatuba* 1978;7(1):7-17.

54. Federation Dentaire International Commission of Dental Materials, Instruments, Equipment and Therapeutics. Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. *Int Dent J* 1980;30(2):140-88.



[Start](#) | [Browse by Day](#) | [Author Index](#) | [Keyword Index](#)

2430 Influence of mixing on the biocompatibility of endodontic sealers

Friday, March 22, 2013: 3:30 p.m. - 4:45 p.m.

Location: Hall 4 (Washington State Convention Center)

Presentation Type: Poster Session

E. DEZAN JR.¹, [L.M.D.S. SANTOS](#)¹, L.T.A. CINTRA¹, J.E. GOMES-FILHO¹, R.N. HOPP², G.A. LOPES¹, L. MASSUNARI¹, and D. VALENTIM¹, ¹Endodontics, Universidade Est. Paulista Julio Mesquita, Araçatuba, Brazil, ²Pathology, Universidade Est. Paulista Julio Mesquita, Araçatuba, Brazil

Objective: The aim of this study was to evaluate the influence of partial mixing of sealers and its correlation to the biological compatibility through immediate reaction (edema) and histological evaluation. **Method:** Wistar rats (n=40) were divided into 4 groups and under general anesthesia received intravenous injection of Evans blue. After 30min, the subcutaneous was injected with 0.1ml of Sealapex® or AH Plus® with complete or partial mixing. After 3 (n=20) and 6 hours (n=20) rats were euthanized, the pieces were removed, macerated and placed in formamide for 72 hours and analyzed by absorbance spectrophotometry. For the histological evaluation (n=20), each wistar rat received four polyethylene tube implants in the dorsum, filled with endodontic sealers partially or totally mixed. Post operative periods were 7 (n=10) and 30 days (n=10). Samples were analyzed by light microscopy after glycol methacrylate embedding, 3-mm serial cutting, and hematoxylin/eosin stain. Quantitative evaluations of the reactions were performed by two-way ANOVA and Kruskal-Wallis tests. **Result:** Sealapex caused less edema than AH Plus (p=0.05). Partial mixing did not influence the immediate reaction (p>0.05). Histological differences between partial and complete mixing were not significant. However, when both sealers were partially mixed, AH Plus showed better histological results (p=0.05). **Conclusion:** Mixing does not seem to play a crucial role in sealer biocompatibility.

Student Presenter

Keywords: Biocompatibility, Dental materials, Endodontics, Inflammation and Root canal fillings

See more of: [Biocompatibility II](#)

See more of: [Dental Materials 5: Biocompatibility and Biologic Effects](#)

[<< Previous Abstract](#) | [Next Abstract >>](#)