



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"

CÂMPUS DE ARAÇATUBA – FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA RESTAURADORA – DISCIPLINA DE
ENDODONTIA

PEDRO HENRIQUE CHAVES DE OLIVEIRA

Biocompatibilidade e capacidade de mineralização de um cimento Biocerâmico experimental. Estudo em tecido subcutâneo de ratos.

Araçatuba – SP
2017



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"

CÂMPUS DE ARAÇATUBA – FACULDADE DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA RESTAURADORA – DISCIPLINA DE
ENDODONTIA

PEDRO HENRIQUE CHAVES DE OLIVEIRA

Biocompatibilidade e capacidade de mineralização de um cimento Biocerâmico experimental. Estudo em tecido subcutâneo de ratos.

Trabalho de Conclusão de Curso como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

Orientador: Prof. Adj. Luciano Tavares Ângelo Cintra.

**Araçatuba – SP
2017**

Epígrafe

*"Pedras no caminho? Eu guardo todas. Um dia vou
construir um castelo."*

Nemo Nox.

Dedicatória

Dedico este trabalho,

À minha tia Vilma Cecília Chaves Santana Sales, mãe Valéria Celma Chaves de Oliveira, pai Junio Antonio de Oliveira, avó Antonia da Silva Chaves e avô Pedro Chaves (in memorian).

Vocês que são os pilares de minha formação profissional e pessoal. Agradeço a Deus por ter me colocado em vossas mãos, por poder receber o carinho, amparo e dedicação de pessoas tão especiais e que são guiadas por apenas um sentimento: o amor. Obrigado pelas batalhas incansáveis que tiveram dia após dia, para que pudessem me proporcionar as melhores oportunidades e por permitirem que os meus sonhos fossem concretizados. Em especial, quero agradecer ao meu avô, que foi um grande pai e que hoje não mais reside nos planos terrenos. Obrigado por ter sido o meu intercessor e por trazer tanta fé e amor a Cristo para nossa família. Serei eternamente grato a ti.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Por ter me dado força, fé, discernimento e por mostrar a cada dia sua presença em minha vida.

À minha Noiva, Daniela Marques Tavares.

Eu não imagino o que é estar sem você, não me vejo sem suas palavras, seu amor e seu carinho. Não conseguiria estar aqui sem a sua força, conselhos e amparo. Você é a mulher que fez com que meus problemas fossem enfrentados, que as minhas conquistas fossem comemoradas e que as minhas derrotas fossem encaradas como aprendizado. Obrigado por compartilhar sonhos, sentimentos e ações. Que nossa união seja para a nossa eternidade e que a odontologia esteja carimbada em nosso caminho. Essa conquista é nossa. Eu te amo.

Às minhas cadelinhas, filhas de coração.

Não sei o que seria do meu humor, ansiedade e desespero se não fosse por esses seres estarem presentes em minha vida. Não posso deixar de agradecer e evidenciar a importância que elas possuem. Os animais são capazes de nos trazer tranquilidade e muito amor. E eu sou capaz de sentir tudo isso com essas duas obras primas que estão em minha vida. Obrigado por mesmo que involuntariamente e inconscientemente me transferirem um sentimento de paz e felicidade todas as vezes que chego em casa.

À minha família.

Agradeço a todos meus familiares pelo apoio, por sempre terem torcido e acreditado em meu potencial mesmo sem eu mesmo saber que eu o tinha.

Polyana de Souza Chaves.

A irmã que eu não tive. Desculpe-me por sempre pegar no seu pé e exigir demais de você. Eu tenho certeza que sabe o quanto eu te quero bem. Serei eternamente grato por ser minha parceira nas artes, nas conquistas e nas horas

de tristeza. Quero sempre poder estar perto de ti e de nossa família, e compartilhar os nossos momentos juntos, sejam eles bons ou ruins.

Aos meus primos.

Iraliza, João Luis, Letícia.

Obrigado pela cumplicidade, pelos anos de convivência e por tudo que compartilhamos juntos. Sinto a falta de cada um de vocês e do tempo em que não tínhamos preocupação com o presente e muito menos com o futuro. Agradeço por poder ter um pouco de cada um naquilo que sou hoje. Amo muito vocês.

Cassia Regina Moraes.

Apesar de não ser biologicamente da minha família, você sabe que passou a se tornar uma de nós. São tantos anos de convivência, tanto aprendizado e aventuras. Obrigado por ter sido meu ombro amigo, meu puxão de orelha durante muito tempo de minha vida. Nunca esquecerei da felicidade que você sentiu no momento em que fui aprovado na universidade em que estou me formando, mostrando que as minhas conquistas são motivos para sua alegria e comemoração. Eu te amo muito.

Rosana Marques Tavares e Ivantério Tavares.

Vocês são exatamente como pais para mim. Agradeço todos os dias pela sogra e sogro que Deus colocou na minha vida. Obrigado por confiarem a filha de vocês a mim, por torcerem e me apoiarem em minhas escolhas e por incentivarem a constante busca pelos meus sonhos. Quero poder tê-los por muito tempo e poder aproveitar ainda mais a bondade e dedicação de vocês. Sou extremamente feliz por tê-los comigo.

Ivantério Tavares Junior e Jaqueline Xavier.

Nunca pensei que ter um cunhado e cunhada seria tão bom assim. Vocês já facilitaram tanto a minha vida e torcem tanto para o meu sucesso. Muito obrigado por nunca me desampararem e por sempre estarem por perto.

Maria Elisa da Silva.

Obrigado por ter me amparado quando necessitei de um lugar para ficar, por ter cuidado tão bem de mim e me ajudado a permanecer firme com os meus objetivos. Tenho um carinho muito grande e sempre serei grato por tudo.

Ao Professor Luciano Tavares Ângelo Cintra.

Sou muito grato por ter tido a oportunidade de ter sido orientado pelo senhor, mestre. Admiro seu trabalho, dedicação e comprometimento para com o ensino e pesquisa. A ciência só tem a ganhar com você. Quero que saiba que eu o tenho como espelho e espero ser um pouco do que o senhor vem sendo. Espero ter o mínimo de brilhantismo e competência que possui. Luto e oro para que um dia eu possa ser um professor como você.

Ao Professor Elói Dezan Junior.

A você, mestre, todo carinho e gratidão. Não serei apenas seu eterno aluno, como também quero tê-lo para sempre como amigo. Minha sincera admiração a você, como professor, cirurgião dentista e pai. Obrigado por sempre confiar em mim, por chamar minha atenção quando me sobrecarrego por não saber dizer não e por se preocupar comigo, zelando sempre pelo meu bem estar e pela minha formação. Gostaria que soubesse que me inspiro em suas habilidades e profissionalismo que aplica na profissão que escolhi para a vida, especialmente na especialidade que mais me identifiquei: a endodontia.

À Professora Mariane Azuma.

Obrigado por ter lutado por mim, por ter intercedido para que hoje, eu estivesse desenvolvendo este trabalho. Sou muito grato por ter confiado em minha pessoa, mesmo sem conhecer com propriedade as minhas características. Eu tenho muito orgulho de suas conquistas e terei você sempre guardada em minha memória. O mundo é pequeno para você e você é pequena demais para o seu coração, sua inteligência e competência. Sou extremamente feliz por ser seu admirador.

À banca examinadora.

A vocês, professores citados acima e aos professores que estão como suplentes dessa banca. Obrigado por se fazerem presente em um dia tão importante para mim e por me darem a honra de serem os avaliadores desse trabalho que desenvolvi com muito carinho e comprometimento. Sou grato por estarem comigo em um dia no qual mais um passo será dado para que um ciclo tão importante de minha vida se feche.

À Professora Sandra Helena Penha de Oliveira.

A senhora conhece cada um de seus alunos pelo nome e procura identificar as dificuldades e limitações de todos nós. Obrigado por me mostrar o universo da docência de uma forma tão específica e única, e por ter desencadeado o desejo em mim de querer ser como você. Eu te admiro muito e quero poder contar com suas experiências, conhecimento e amizade por toda vida. E como te disse um dia, eu não fui seu aluno, mas sim, sempre serei. Você marcou a minha vida com o amor que tem pelo seu trabalho. Durante os cinco anos de formação odontológica, tenho você como a melhor educadora, a biomédica de formação que foi capaz de fazer com que eu me apaixonasse ainda mais por odontologia.

À Professora Marcelle Danelon.

Acredito que a senhora ainda não conseguiu entender a importância que tem para cada um dos alunos de minha turma. Digo que Deus foi tão gracioso em ter permitido você logo no início de nossa jornada na Faculdade de Odontologia. Você nos fez compreender melhor o ensino superior e a nossa instituição. A senhora se preocupou em decorar os nomes de cada um de nós para tentar fazer, na medida do possível que os nossos caminhos fossem mais fáceis e que nosso medo, anseios de início de vida acadêmica fossem controlados. Seu coração é repleto de bondade. Sou um de seus maiores admiradores. E também a tenho como fonte de inspiração. Tenho certeza que te verei muito além. Professora, você nasceu pra tudo isso que te envolve. Nasceu para lecionar e para iluminar os caminhos daqueles que encontra. Obrigado!

Ao Professor Gustavo Sivieri de Araújo.

Quero agradecer a oportunidade que me deu de conhecer um pouco sobre a pesquisa, sobre a endodontia e das linhas que o senhor desenvolve. Obrigado por ter me contado a sua história e por ter me dado força para seguir com meus sonhos, como você seguiu. As portas que me abriu foram de grande aprendizado e fez com que eu tivesse a certeza que estava no lugar certo. Sempre lhe serei grato, professor.

Ao Professor Ricardo Coelho Okida.

Pequeno grande homem. Um profissional admirável. Um professor que se preocupa com a melhor formação para os seus alunos. Tê-lo em minha formação odontológica, fez com que eu admirasse a odontologia restauradora e compreendesse a complexidade dessa área da odontologia. Além de seu profissionalismo, sua amizade foi algo que me chamou atenção. Não se preocupou comigo apenas no ano em que esteve ministrando aulas para mim, mas continuou demonstrando interesse em meus passos por todo o caminho. Sou grato por ter seus incentivos, seus conselhos e seus empurrões. Sempre o levarei guardado em meu coração, professor.

Às pós graduandas da disciplina de Endodontia.

Francine Benetti.

Vejo que a jornada não é fácil, sinto que o cansaço é extremo, mas me alegro por vê-la sempre sorrindo. Obrigado por ter me conduzido por quase todo meu caminho na endodontia e mesmo cansada e com mil funções se mostrou tão dedicada e preocupada em me ajudar a desenvolver os trabalhos no departamento. Esse trabalho, sem sobra de dúvidas não estaria pronto sem a sua dedicação.

Letícia Conti Citelli.

Uma sulista que chegou tão quietinha, mas se provou ter um coração barulhento e cheio de vontade de fazer o bem. Obrigado por ter me conduzido e me orientado no início de minha inserção nessa equipe de pesquisa tão especial. Parabéns por ter a capacidade de aprender e ensinar ao mesmo tempo. Imagino

o quanto deve ser difícil para você, mas nunca desista, pois você está no lugar certo.

Carolina de Barros Morais Cardoso.

Você foi para mim, a intersecção entre graduação e pós graduação. Obrigado por ter se tornado tão próxima de mim e por me mostrar os caminhos que te levaram a escolher essa estrada que exige dedicação e esforço. O professor Luciano só tem motivos para se alegrar, pois a competência de seus orientados é de grande destaque.

Aos meus amigos.

Kênia Diany Garcia do Nascimento (in memoriam).

Com você aprendi que a amizade transcende até mesmo os limites espirituais. Nunca deixarei de carregar a sua essência, seu humor e sorriso para toda vida. Obrigado por ter me mostrado que o tempo é apenas um artefato maldoso que nos faz deixar de lado o que realmente importa, a felicidade. O seu adeus foi uma demonstração de que, independente de nossos problemas, a vida é uma só, portanto deve ser muito bem vivida. Você será eterna em meu coração. Continuarei sentindo a sua falta.

Marina Martins Moreira.

A vida sempre nos mostrou que somos irmãos de coração. A sua amizade é de extrema importância para mim. Obrigado por sempre estar comigo quando eu preciso. Admiro seu talento, sua capacidade, responsabilidade e inteligência. Desejo que sempre sejamos assim, próximos. Amigos, companheiros, irmãos. Que nunca deixemos de ter um ao outro e que nossa amizade possa superar qualquer obstáculo. Agradeço por sempre acreditar em mim.

Lucas Henrique Galvão.

Quero agradecer pela dedicação que tem a nossa amizade, por sempre ter me ouvido, me aconselhado e me amparado. Amigos verdadeiros são difíceis de se

fazer, mas você é um deles. Serei eternamente grato por tudo que tem feito por mim.

Maicon Cezar Marino Alves.

O mundo dá tantas voltas. A maturidade nos faz entender coisas que as vezes nunca achávamos ser capazes de compreender. Você faz parte de minha família e sempre estará guardado em minha memória. Nossa amizade se provou verdadeira e demonstrou ser extremamente resiliente. Obrigado, meu irmão.

Mariana Ondeí Nunes.

Temos uma amizade muito peculiar. Tenho muita alegria em ter você como amiga há tanto tempo. Espero que seu caminho seja de extrema sucesso e que sempre possamos compartilhar as nossas conquistas.

Malena Moraes Castro e Silva.

Desde o primeiro dia de aula já nos conhecemos e começamos a desenvolver a amizade que durou por cinco anos e durará por toda a vida. Quero agradecer pelos ensinamentos, conselhos e tolerância para com a minha pessoa. Eu torço muito por você e sei que terá muito sucesso. E tenho certeza que nossa amizade não será apenas limitada aos cinco anos de graduação.

Lara Cristina da Cunha Cervantes.

Por causa de você passei a enxergar a odontologia com outros olhos. Quero agradecer pelo empenho que teve durante esses meus anos de faculdade. Obrigado por sempre ter me ajudado durante os meus momentos de dificuldade. Os meus caminhos foram muito mais facilitados porque você esteve por perto.

Luiz Estevam Cavenge Filó.

Sou grato por compartilhar pensamentos, sugestões e por ter um amigo que tenta me entender mesmo quando parece ser complicado o entendimento. Agradeço os conselhos, a coragem que me fez sentir em momentos que me sentia incapaz e pelos empurrões que me deu. Nossa amizade começou há pouco, mas já tem uma extrema importância pra mim.

Ronaldo Antonio Tolentine Prette Junior.

Obrigado por ter estado como minha dupla durante quase todo o curso. Espero ter contribuído para sua formação. Assim como você contribuiu para minha. Sou muito feliz por ter você como amigo.

Bianca Aurora Bernardes, Fernanda Zabatiero Russo, Mariana de Souza.

Espero ter ajudado vocês durante esses anos que estive convosco em nossa instituição. Obrigado por terem confiado em mim para apadrinhar vocês logo que entraram na faculdade. Sou grato por ter conhecido todas vocês e por ter desenvolvido uma amizade de tanta importância pra mim.

Ana Flávia Hordones, Afonso, Francienne, Gabriel, Gabriela, Heitor, Letícia Gonçalves, Luanna Gonçalves, Mariana Martins, Mariana Bis, Maryanara, Matheus, Sara.

Esses anos foram tão mais fáceis tendo vocês por perto. É difícil pensar que não nos veremos mais com frequência. Mas ao mesmo tempo, é confortante saber que minha vida foi e sempre será marcada por pessoas como vocês. Quero que todos nós possamos nos realizar na profissão escolhida e que nunca deixemos de ser próximos, mesmo que estejamos distantes. Tive momentos excelentes ao lado de pessoas excepcionais como vocês.

Às minhas duplas de atendimento.

Agradeço pela paciência, dedicação e compreensão. Compartilhamos momentos que com certeza serão de extrema valia para a minha formação. Quero que sempre possamos lembrar de nossos dias de atendimento, nossos pacientes e nossa realização como profissional, enquanto alunos.

Ao meu grupo de Estudo.

Erika, Karen, Jéssica, Juliana, Laís, Lara, Letícia.

O que seria de minhas notas se não tivesse vocês para me animar, não deixar que eu dormisse ou desanimasse. Foram tantos dias de discussões, questionamentos e leituras. Quanto aprendizado pude adquirir com vocês.

Fomos amigos durante todo esse tempo de graduação. E apesar de nossas provas terem chegado ao fim, quero deixar bem claro que qualquer dúvida sempre recorrerei a vocês.

A Ordem Demolay, Interact Club e Rotaract Club.

Essas organizações filantrópicas foram responsáveis por me transformarem e me tornarem uma pessoa comunicável e de fácil compreensão. Sou grato por ter tido o privilégio de desfrutar os ensinamentos e experiências.

À turma 59 de odontologia.

Quantas pessoas diferentes umas das outras, quantos questionamentos, aprendizado, discussão. Mas acima de tudo, quanta conquista. Tenho muito orgulho de ter feito parte dessa turma de alunos. Uma sala de pessoas dedicadas e extremamente envolvidas com a faculdade. Ter sido representante de 78 alunos foi um dos meus maiores desafios, mas também um dos maiores aprendizados. Sempre levarei todos os momentos vividos e sempre terei excelentes recordações dos cinco anos que passamos juntos.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa).

Obrigado pelo suporte financeiro e confiança que a mim foi depositada para a realização desse projeto.

Ao Programa de Educação Tutorial.

A princípio, eu não entendia o conceito desse grupo. Não esperava que durante os quatro anos que estive como membro, eu iria me transformar em uma pessoa tão diferente da que eu antes. Fico muito feliz em poder ver que os esforços que eu apliquei para que aumentássemos nossos trabalhos e atividades estão surtindo efeito. Eu desejo que o PET continue trazendo muito aprendizado na vida de todos os seus membros e que nossa faculdade possa cada vez mais, entender a importância de nossas ações.

Ao Cursinho D.A.C.A. – UNESP Araçatuba.

Foi aqui que descobri que nasci para ser professor, independente do curso que eu fizesse, a sala de aula sempre será o local onde me sentirei aliviado e longe dos meus problemas. Obrigado por ter sido o local que permitiu com que eu me tornasse um professor, mesmo que sem título, mas de corpo e alma.

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba.

Nas pessoas dos professores Dr. Wilson Roberto Poi, digníssimo Diretor e Dr. João Eduardo Gomes Filho, digníssimo Vice-Diretor, agradeço essa faculdade por ter sido a minha casa durante esses cinco anos. Além de ter sido a grande responsável pela minha formação profissional. Tenho muito orgulho por me tornar um cirurgião-dentista formado nessa instituição.

Aos Pacientes.

Agradeço a cada um dos pacientes que foram atendidos por mim. Obrigado pela compreensão, carinho, palavras de conforto. Vocês fazem com que nossos dias sejam mais tranquilos e nos dão a certeza de que escolhemos a profissão certa.

Aos animais de laboratório.

Os animais são seres vivos e merecem o nosso respeito e dedicação. Agradeço por essas vidas terem servido a ciências. Peço desculpas pelo fato de ter que utilizá-los para alcançarmos a melhoria de nossas pesquisas.

Aos Funcionários.

É muito bonito ver a dedicação e empenho que todos possuem para com suas funções. Os funcionários de nossa faculdade merecem todo reconhecimento e agradecimento por tornarem nosso dia a dia muito mais fácil. Obrigado por serem tão prestativos e sempre estarem conosco.

Aos demais mestres,

Sou grato a todos os professores que foram responsáveis por contribuir para a minha formação. Em especial, gostaria de agradecer a Professoras Karina Helga Turcio, Ticiane Cestari Fagundes Tozzi e Professor Paulo Henrique dos Santos. A odontologia só tem a ganhar com vocês. Nunca deixem de serem apaixonados

pela vossa vocação. A faculdade de odontologia de Araçatuba tem uma grande sorte ter vocês como docentes e temos o privilégio de recebermos parte de seus conhecimentos.

E a todos aqueles, que direta ou indiretamente fossem responsáveis por fazer com que eu obtivesse essa conquista.

Minha eterna gratidão.

Oliveira, PHC. **Biocompatibilidade e capacidade de mineralização de um cimento Biocerâmico experimental. Estudo em tecido subcutâneo de ratos.** 2017. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2017.

RESUMO

Tendo em vista o desenvolvimento de um cimento experimental biocerâmico (BIOEXP), o Biosealer, que contém o hidróxido de cálcio em sua formulação, a proposta foi avaliar a sua resposta tecidual, comparando-o ao MTA Fillapex e ao AH Plus. Foram utilizados 64 tubos de polietileno e 16 ratos (4 tubos por rato) divididos em 4 grupos: G1 – controle (tubos vazios); G2 – tubos contendo o BIOEXP; G3 – tubos contendo o cimento MTA Fillapex, G4 – tubos contendo o AH Plus. Após 7 e 30 dias, os animais foram sacrificados e os tubos removidos e fixados em solução de formalina a 10%. Os espécimes foram processados para análise em microscopia de luz, com coloração de H.E. e Von Kossa, e sem coloração para luz polarizada. Os cortes teciduais foram avaliados por escores e os dados foram analisados pelos testes de Kruskal Wallis e Dunn, com nível de significância de 5% ($p < 0,05$). A resposta tecidual foi avaliada obedecendo a normativa para testes de biocompatibilidade tecidual (ISO 10993-6:2007). Aos 7 dias, os cimentos apresentaram uma resposta inflamatória de moderada a severa, que reduziu para discreta a moderada aos 30 dias. O cimento Biocerâmico experimental, apresentou-se biocompatível e com capacidade de biomineralização semelhante ao MTA Fillapex®.

Palavras-Chave: Biocompatibilidade, capacidade de mineralização, cimento biocerâmico

Oliveira, PHC. **Biocompatibility and mineralization capacity of an experimental Bioceramic cement. Study on subcutaneous tissue of rats.** 2017. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2017.

ABSTRACT

In order to develop a bioceramic experimental cement (BIOEXP), the biosealer, which contains calcium hydroxide in its formulation, the proposal was to evaluate its tissue response, comparing it to the Fillapex MTA and the AH Plus. It was used 64 polyethylene tubes and 16 rats (4 tubes per mouse) divided into 4 groups: G1 - control (empty tubes); G2 - tubes containing BIOEXP; G3 - tubes containing the MTA Fillapex cement, G4 - tubes containing the AH Plus. After 7 and 30 days, the animals were sacrificed and the tubes removed and fixed in 10% formalin solution. The specimens were processed for light microscopy analysis, with staining of H.E. and Von Kossa, and no staining for polarized light. Tissue sections were assessed by scores and the data were analyzed by the Kruskal Wallis and Dunn tests, with a significance level of 5% ($p < 0.05$). The tissue response was evaluated according to the norms for tissue biocompatibility tests (ISO 10993-6: 2007). At 7 days, the cements presented a moderate to severe inflammatory response, which reduced to mild to moderate at 30 days. The experimental Bioceramic cement was biocompatible and with biomineralization capacity similar to the MTA Fillapex.

Keywords:

Biocompatibility, biomineralization assessment, bioceramic cement.

LISTA DE TABELAS

- Figura 1 - Figura 1. Sequência de procedimentos para remoção e armazenamento do tubo de polietileno preenchido com cimento associado ao tecido subcutâneo do animal. A – Localização dos tubos; B- Remoção dos tubos e dos tecidos; C- Material recolhido para análise; D – Armazenamento em cassete. 8
- Figura 2 - Figura 2. Imagem histológica da região que entrou em contato com os materiais avaliados. As letras maiúsculas representam as imagens em um aumento de 100x, já as letras minúsculas em aumento de 400x. O Grupo Controle é representado pelas letras A e E, Grupo MTA FILLAPEX, letras B e F, Grupo AH PLUS, letras C e G e o grupo Biosealer, pelas letras D e H. 11
- Figura 3 - Figura 3. As letras em maiúsculo representam as imagens obtidas pela técnica de Von Kossa, já as minúsculas, a técnica de Polarizada. O grupo controle está representado pela letra A e E, Grupo MTA FILLAPEX, letras B e F, Grupo AH PLUS, letras C e G e Grupo Biosealer, letras D e H. 12

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Tabela 1. Escore para análise do processo	11
-	Inflamatório e espessura da Cápsula Fibrosa de todos os grupos.	
Tabela 2	Tabela 2. Indicador em porcentagem para	12
-	calcificação.	

SUMÁRIO

Páginas

1 -	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	1
2 -	PROPOSIÇÃO.....	5
3-	MATERIAL E MÉTODO.....	5
4 -	MATERIAL E MÉTODOS.....	5
5 -	FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	7
6 -	RESULTADOS.....	9
8 -	DISCUSSÃO.....	12
9 -	CONCLUSÃO.....	15
10 -	REFERÊNCIAS.....	15

1 - INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A endodontia é a especialidade da odontologia que é responsável por realizar a terapia dos canais radiculares. O tratamento endodôntico é a terapia escolhida para salvar o dente quando diagnosticado com pulpite irreversível ou periodontite apical (Wolters W.J. *et al.* 2017), tendo como objetivo, através do preparo químico-mecânico e curativo de demora, promover a remoção e neutralização de conteúdos tóxicos que sejam prejudiciais ao tecido pulpar. (Tanomaru *et al.* 2003, Holland *et al.* 2007, Gomes-Filho *et al.* 2011). Os espaços criados durante a realização do tratamento endodôntico necessitam ser preenchidos para ser mantida a integridade e preservação dos tecidos em contato com o ápice dentário (Stoll R. *et al.* 2005). Sendo assim, a obturação tem o objetivo de selar hermeticamente o sistema de canais radiculares, anulando os espaços vazios que foram criados pelo preparo endodôntico, dessa forma as bactérias são impedidas de lesarem os tecidos os tecidos periapicais. Uma outra função de nossos materiais obturadores é o fato de serem capazes de induzirem o reparo, estimulando a ocorrência da obturação bioórgica (Holland & Souza 1985, Ørstavik D. 2005, Leonardo 2008).

Atualmente, podemos encontrar diferentes tipos de cimentos no mercado, apresentando propriedades químicas, biológicas, mecânicas e físicas distintas. Devido a isso, necessita-se avaliar o comportamento biológico desses materiais (Silva L.A.B. *et al.* 2017). Um cimento ideal deve ter capacidades seladores de excelência, boa estabilidade dimensional, tempo de trabalho adequado, ser insolúvel e biocompatível (Groosman L.I. 1981, Lim E.S., 2015). Para evidenciarmos a biocompatibilidade de um cimento, o mesmo deve: ser atóxico, não causar necrose tecidual e ser rápido e facilmente aceito pelos tecidos, sem manter uma sequela inflamatória (Guttuso 1963, Morse *et al.* 1984ab). Sabe-se que alguns desses materiais podem, por meio de um mecanismo já conhecido, estimular a deposição de tecido mineralizado sobre o ápice radicular, resultando no chamado selamento biológico (Holland & Souza 1985, Silva-Herzog D. *et al.* 2011, Silva L.A.B. *et al.* 2014). A participação ativa dos componentes integrantes da fórmula dos cimentos endodônticos, particularmente o hidróxido de cálcio, é

de fundamental importância para o processo de reparo dos tecidos periapicais (Holland *et al.* 1999, 2002).

Existem diversos métodos para avaliar a biocompatibilidade, tais como o seu estudo em dentes de animais (Rowe 1967, Holland *et al.* 2001, Bernabé *et al.* 2010, Mutoh *et al.* 2011), em implantes em tecido subcutâneo de ratos (Torneck 1966 e 1967, Morse *et al.* 1984ab, Orstavik & Mjör 1988, Holland *et al.* 2002, Gomes-Filho *et al.* 2011, Cintra *et al.* 2012,), em alvéolo dentário (Okamoto & Russo 1973, Degroot *et al.* 1995, Cintra *et al.* 2006, Wälivaara *et al.* 2012), e ainda em cultura de células (Langeland *et al.* 1981, Safavi *et al.* 1989, Miranda *et al.* 2009, Willershausen *et al.* 2011). O implante em tecido subcutâneo de ratos utiliza tubos de polietileno contendo o material a ser avaliado. É um método simples, de fácil reprodução e padronização e é recomendado pelas normativas ISO 10993-6. 2007.

As reações teciduais, frente a novos materiais, devem ser anteriormente verificadas em tecido conjuntivo subcutâneo (ISO 10993-6. 2007). A biocompatibilidade do material pode ser verificada pela coloração de hematoxilina e eosina (H.E.) (Gomes-Filho *et al.* 2008, 2009, 2011, Cintra et al. 2012). Já para detectarmos a capacidade de mineralização, necessitamos de métodos específicos, tais como pela técnica de Von Kossa e por meio da luz polarizada (Holland *et al.* 2002, Gomes-Filho *et al.* 2008, 2009, 2011, Cintra *et al.* 2012). A coloração, pela técnica de Von Kossa, é utilizada para detectar estruturas mineralizadas do tecido, que na análise microscópica, aparecem coradas em preto. A luz polarizada permite observar estruturas birrefringentes, que possuem cristais de carbonato de cálcio, originados a partir da combinação dos íons cálcio do material e o gás carbônico do tecido (Gomes-Filho *et al.* 2008).

O material experimental é um cimento biocerâmico, cujas propriedades biológicas ainda não foram verificadas. Os materiais biocerâmicos podem possuir vantagens como selantes de canais radiculares. A primeira seria a sua biocompatibilidade, que evita a rejeição pelos tecidos circundantes. A segunda vantagem se baseia no fato de que esses materiais contêm fosfato de cálcio, que aumenta as propriedades de fixação de biocerâmicas e resulta em uma composição química e estrutura cristalina semelhante aos dentes e os materiais

de apatita óssea, melhorando, assim, a ligação dentina selante-raiz (Al-Haddad, A & Che Abi Aziz, Zeti A 2016). Segundo Candeiro, os cimentos produzidos à base de biocerâmicos são menos citotóxicos e genotóxicos e evidenciaram efeitos antibacterianos similares ao AH Plus, cimento à base de resina epóxica (Candeiro *et al*, 2011). Além de sua composição ser de extremo interesse e poder desencadear melhores respostas teciduais e também melhor adaptação do material selador no canal radicular, esse cimento é uma mistura pronta na forma de pasta. Foi desenvolvido para aplicações de preenchimento e selagem permanentes de canal radicular de dentes tratados endodonticamente. E apresenta um novo conceito de aplicação, sendo o mesmo introduzido diretamente no canal por meio de micro pontas. Essa forma de aplicação é de extremo interesse para os endodontistas, já que facilita a condução do cimento até os canais radiculares. E também, segundo testes do fabricante, o material apresenta comportamento físico-químico adequado e de acordo com as normativas.

O Biocerâmico experimental (BIOEXP), material em questão apresenta em sua composição Óxido de Zircônio 35 a 45%. Esse material vem sendo utilizado como substituto do radiopacificante óxido de bismuto, presente em cimentos como MTA Fillapex. Estudo recente aponta que o bismuto vem sendo substituído, pois afeta negativamente os fatores físico-químicos e propriedades biológicas de cimentos, provocando manchas dentais devido à interação com o colágeno presente em tecidos duros dentários e também reagindo com hipoclorito de sódio, utilizado frequentemente em terapias endodônticas. Além disso, o óxido de zircônio, material utilizado na composição do cimento experimental, mostra ser bioativo, devido à indução de precipitados que precede a formação de apatita quando em contato com o fluido corporal simulado em pesquisas (Viapian, R. *et al* 2014). O BIOEX também contém o Silicato tri-cálcio 20 a 35%, responsável por induzir a bioatividade na superfície do material quando em contato com fluidos de tecidos, como resultado da interação de hidróxido de cálcio produzido como produto da reação desse composto com fosfatos presentes nos fluidos teciduais. A interação desses materiais com a dentina tem sido denominada zona de infiltração mineral (Khalil I. *et al*, 2016). Mais um componente é o Silicato

di-cálcio 7 a 15%. Esse composto vem se apresentando como bom selador, baixa citotoxicidade, e apresenta boa adesão em estruturas radiculares, devido às reações que provocam em contato com os tecidos (Silva Almeida S. H *et al*, 2016). E por fim, o Hidróxido de Cálcio 1 a 4%. Além de ter como proposta ser um bom selador, o cimento analisado nesse estudo é descrito como mineralizador devido à presença desse composto. Os íons cálcio podem reagir com o dióxido de carbono nos tecidos e formar granulações de carbonato de cálcio, observado como cristais de calcita birrefringentes à luz polarizada. Estes cristais podem servir como locais de nucleação, estimulando a deposição de tecidos duros (Cintra *et al*, 2013).

A ciência tem como objetivo encontrar um material que tenha biocompatibilidade, que apresente, preferencialmente, capacidade de biomineralização e que satisfaça as necessidades de reparo e selamento de canal. Sabemos que existem diversos tipos de cimentos e que os fatores que os diferenciam são os seus componentes principais como, óxido de zinco e eugenol, ionômero de vidro, resina epóxi, hidróxido de cálcio, entre outros (Geurtsen 2001). Como se trata de um novo material, propomos analisar seu comportamento biológico de forma comparativa a cimentos já comumente utilizados, sendo um à base de hidróxido de cálcio, o MTA Fillapex e outro à base de resina epóxica, O AH Plus.

O MTA Fillapex já demonstrou, em diferentes situações, excelentes resultados. Apresentou ser um cimento com capacidade mineralizadora significativa (Gomes-Filho J.E. *et al*, 2012). Sendo assim, além de sua capacidade seladora, esse material foi utilizado para compararmos a propriedade mineralizadora do novo cimento experimental. O AH Plus foi escolhido para análise comparativa, pois o mesmo é à base de resina epóxica e possui excelentes propriedades físicas, tempo de trabalho longo, baixa solubilidade, ou seja, apresenta características importantes como seladores (Cakici F. *et al*. 2016).

Admitindo que o cimento experimental carece de informações quanto à resposta tecidual, o objetivo deste trabalho foi avaliar a biocompatibilidade e

capacidade de mineralização de um cimento biocênico experimental comparativamente ao MTA Fillapex e o AH Plus.

Sendo assim, o Biosealer, tendo sua biocompatibilidade testada e comprovada, poderá oferecer ótimas condições de adaptação no canal radicular, respostas teciduais adequadas e capacidade de mineralização de acordo com os materiais que estão em sua composição e as excelentes propriedades que possuem. Além disso, poderá facilitar o trabalho do profissional que o utilizará, pois além de possuir critérios significantes de composição, possui um meio alternativo de aplicação que seria de grande valia para os profissionais.

2. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi avaliar qualitativamente a resposta inflamatória (biocompatibilidade) e a capacidade de mineralização do cimento biocerâmico experimental, acondicionado em tubos de polietileno e implantados em tecido subcutâneo de ratos, comparando-o ao MTA Fillapex e ao AH Plus.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 16 ratos machos (*Rattus albinus*, Wistar), pesando entre 250g a 280g, provenientes do biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura entre 22°C e 24°C, com ciclo de luz controlada (12 horas claro e 12 horas escuro) e em gaiolas coletivas, quatro ratos por gaiola, alimentados durante **todo o período experimental com dieta sólida e água "ad libitum"**, exceto nas primeiras 24 horas após a intervenção. Cada animal receberá quatro implantes, totalizando 64 implantes. Os procedimentos experimentais propostos neste estudo foram submetidos ao comitê de ética em pesquisa animal (CEUA 01052 - UNESP).

Foram utilizados o cimento biocerâmico experimental, o cimento MTA Fillapex e o cimento AH Plus.

Foram utilizados 80 tubos de polietileno (Abbot Lab. Do Brasil Ltda., São Paulo) com 1,0 mm de diâmetro interno, 1,6 mm de diâmetro externo e 10,0

mm de comprimento (ISO 10993-6: 2007), os quais foram esterilizados em óxido de etileno (ISO 10993-7:1995).

Para anestesia dos animais, foi utilizado, via intramuscular, um sedativo à base de xilazina (Dopaser, Calier S.A. - Barcelona, Espanha - 10mg/Kg) e um anestésico à base de Cloridrato de Ketamina a 5% (Vetanarcol, König S. A. - Avellaneda, Argentina - 80mg/Kg).

Os animais foram inicialmente pesados, sedados com injeção intramuscular de Dopaser, e em seguida anestesiados com Vertanacol. O período de trabalho com cada animal não ultrapassou 5 minutos, para não haver necessidade de complementação anestésica.

Após a anestesia, foi feita a tricotomia da região dorsal e a lavagem da área com a finalidade de se evitar contaminação do campo cirúrgico pela presença de pêlos. A anti-sepsia da área desprovida de pelos foi efetuada com solução de iodo 5%. Em seguida, iniciou-se o procedimento cirúrgico, fazendo-se uma incisão com lâmina de bisturi número 15, no dorso do animal, (tendo a coluna vertebral como linha média de marcação). Após a divulsão do tecido subcutâneo para o lado esquerdo da porção cranial e caudal e direito da porção cranial e caudal, cada bolsa recebeu, com auxílio de pinça reta, um tubo. Assim, cada animal recebeu quatro tubos, três preenchidos com os materiais a serem testados e um tubo vazio como controle. O tecido foi suturado com fio de seda 4.0 (Ethicon, Johnson e Johnson, São Paulo, SP, Brazil) não reabsorvível e a anti-sepsia final foi realizada com solução de iodo 5%. Os animais foram acompanhados até se recuperarem da anestesia antes de retornarem ao biotério.

Assim, após os procedimentos experimentais, foram formados os grupos:

- Grupo 1: Controle
- Grupo 2: Cimento biocerâmico experimental
- Grupo 3: Cimento MTA Fillapex
- Grupo 4: Cimento AH Plus

Os períodos de avaliação foram de 7, 30 (American National Standards Institute 1979, Federation Dentaire International 1980). A cada tempo

experimental, oito animais foram mortos por meio de uma dose excessiva de anestésico (Cloridrato de Ketamina - Vetanarcol, König S. A. – Avellaneda, Argentina). Após o sacrifício, foi realizada novamente uma tricotomia da região dorsal e anti-sepsia da área com solução de iodo 5%. Logo após, foi realizada uma nova incisão com lâmina de bisturi número 15, tendo a coluna vertebral como linha média de marcação. Os tubos foram localizados e removidos juntamente com os tecidos que os envolvem (Figura 1) e foram fixados em solução formalina 10% pH 7. As amostras foram processadas e incluídas em glicol metacrilato (GMA) (Gomes-Filho *et al.* 2001), cortadas seriadamente em 3µm para que fossem coradas com hematoxilina e eosina e 10 µ m para fossem coradas de acordo com a técnica de Von Kossa ou permanecerem sem coloração para serem observadas sob luz polarizada.

Figura 1. Sequência de procedimentos para remoção e armazenamento do tubo de polietileno preenchido com cimento associado ao tecido subcutâneo do animal. A – Localização dos tubos; B- Remoção dos tubos e dos tecidos; C- Material recolhido para análise; D – Armazenamento em cassete.



Fonte: OLIVEIRA, PHC et al. 2017.

5. FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS

O resultado foi exposto por meio de análise qualitativa (descritiva), referente a cada grupo experimental e tempo pós-operatório.

Análise Descritiva

As lâminas contendo os cortes mais representativos de cada espécime foram avaliadas sob a microscopia óptica e utilizadas na análise descritiva. A análise histomorfológica qualitativa consistiu na descrição dos fenômenos histopatológicos, procurando caracterizá-los globalmente em função das variáveis experimentais e separadas de acordo com as técnicas de H.E., Von Kossa ou por meio da luz polarizada.

A análise qualitativa foi realizada por meio da atribuição de escores, graduando as magnitudes dos fenômenos histopatológicos dissociados. Esta análise consistiu na avaliação das condições histopatológicas das estruturas examinadas, em itens distintos, atribuindo magnitudes registradas sob a forma de escores de 1 a 4 para resposta inflamatória (Federation Dentaire International 1980), possibilitando, dessa maneira, dados para uma análise estatística posterior, por meio do Software Pacote (Microsoft Visual FoxPro, Direitos: Eymar Sampaio Lopes).

Este método de avaliação foi baseado nos critérios descritos por Orstavik & Mjör (1988), Federation Dentaire International (1980) e Cintra et al. (2010). Foi considerado Escore 1 quando observou-se células inflamatórias ausentes ou em número desprezível; Escore 2 para Infiltrado inflamatório discreto (menos de 25 células por campo); Escore 3 para Infiltrado inflamatório moderado (entre 25 e 125 células por campo); Escore 4 para Infiltrado inflamatório severo (mais que 125 células por campo).

A capsula fibrosa foi considerada fina quando menor que 150 μm e espessa quando maior que 150 μm .

A calcificação foi considerada presente ou ausente.

Análise Estatística

A avaliação microscópica foi efetuada por um pesquisador calibrado e de forma cega. Os resultados da análise microscópica quantitativa dos cortes longitudinais semi-seriados dos tubos contendo os materiais, representativos de cada grupo experimental, foram apresentados por meio de uma análise

comparativa de acordo com os escores atribuídos aos critérios de avaliação. De posse dos dados obtidos na forma de escores, foi realizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (Siegel et al. 1956) para os critérios de análise histológica empregados. Esse teste comparou os 4 grupos entre si, para posteriormente, quando foi observada alguma diferença significativa, realizar o cruzamento entre os grupos, dois a dois, pelo teste de comparações múltiplas de Dunn (Dunn 1958).

Para todos os testes empregados, foi considerado o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

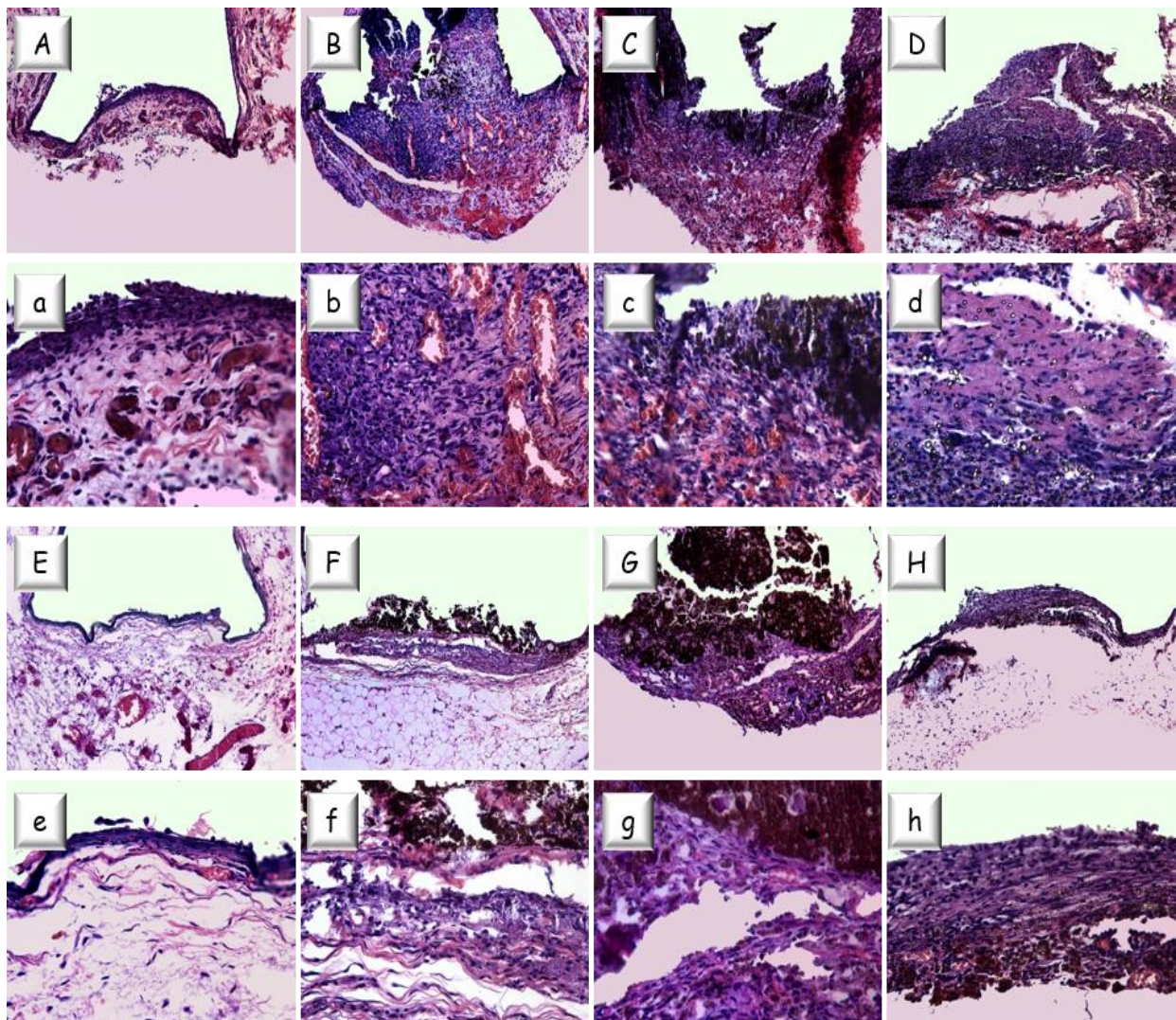
4. RESULTADOS

Aos 30 dias, os grupos MTA Fillapex e AH Plus apresentaram inflamação moderada ($P > 0,05$) levando em consideração o infiltrado inflamatório, enquanto os grupos BIOEXP e Controle, inflamação leve e ausente, respectivamente ($P > 0,05$). A diferença foi observada entre os grupos MTA Fillapex e AH Plus em relação ao grupo Controle ($P < 0,05$), sendo que esses apresentaram mais quantidade de células inflamatórias no campo avaliado do que o grupo BIOEXP aos 30 dias. Todos os espécimes do grupo Controle tiveram uma cápsula fibrosa fina aos 30 dias, bem como a maioria dos espécimes dos grupos BIOEXP e AH Plus. No entanto, vários espécimes do grupo MTA Fillapex ainda tinham uma cápsula fibrosa espessa nesse período.

O processo inflamatório e a espessura das cápsulas fibrosas de cada grupo foram avaliados por meio de imagens (Figura 2), sendo possível enquadrar os resultados, de acordo com os escores previamente estabelecidos (Tabela 1). Após 7 dias de implantação, observou-se uma grande resposta inflamatória no grupo BIOEXP, resposta inflamatória moderada em MTA Fillapex e no grupos AH Plus e inflamação leve no grupo Controle. As células inflamatórias observadas foram polimorfonucleares, macrófagos e células gigantes multinucleadas. A cápsula fibrosa foi espessa em todos os espécimes de todos os grupos neste período. Já aos 30 dias, foi observado um diminuição do infiltrado inflamatório

encontrado em todos os grupos. Sendo que o grupo MTA Fillapex ainda apresentou cápsulas fibrosas espessas, diferente dos outros grupos que tiveram uma diminuição significativa dessa estrutura formada após a resposta inflamatória ter sido ativada. O grupo AH Plus apresentou, de acordo com a análise estatística, uma inflamação moderada no primeiro período e se manteve no período de 30 dias. Porém, tivemos a redução de suas cápsulas fibrosas.

Figura 2 - Imagem histológicas da região que entrou em contato com os materiais avaliados. As letras maiúsculas representam as imagens em um aumento de 100x, já as letras minúsculas em aumento de 400x. O Grupo Controle, é representado pelas letras A e E, Grupo MTA FILLAPEX, letras B e F, Grupo AH PLUS, letras C e G e o grupo Biosealer, pelas letras D e H.



FONTE: OLIVEIRA, PHC et al. 2017.

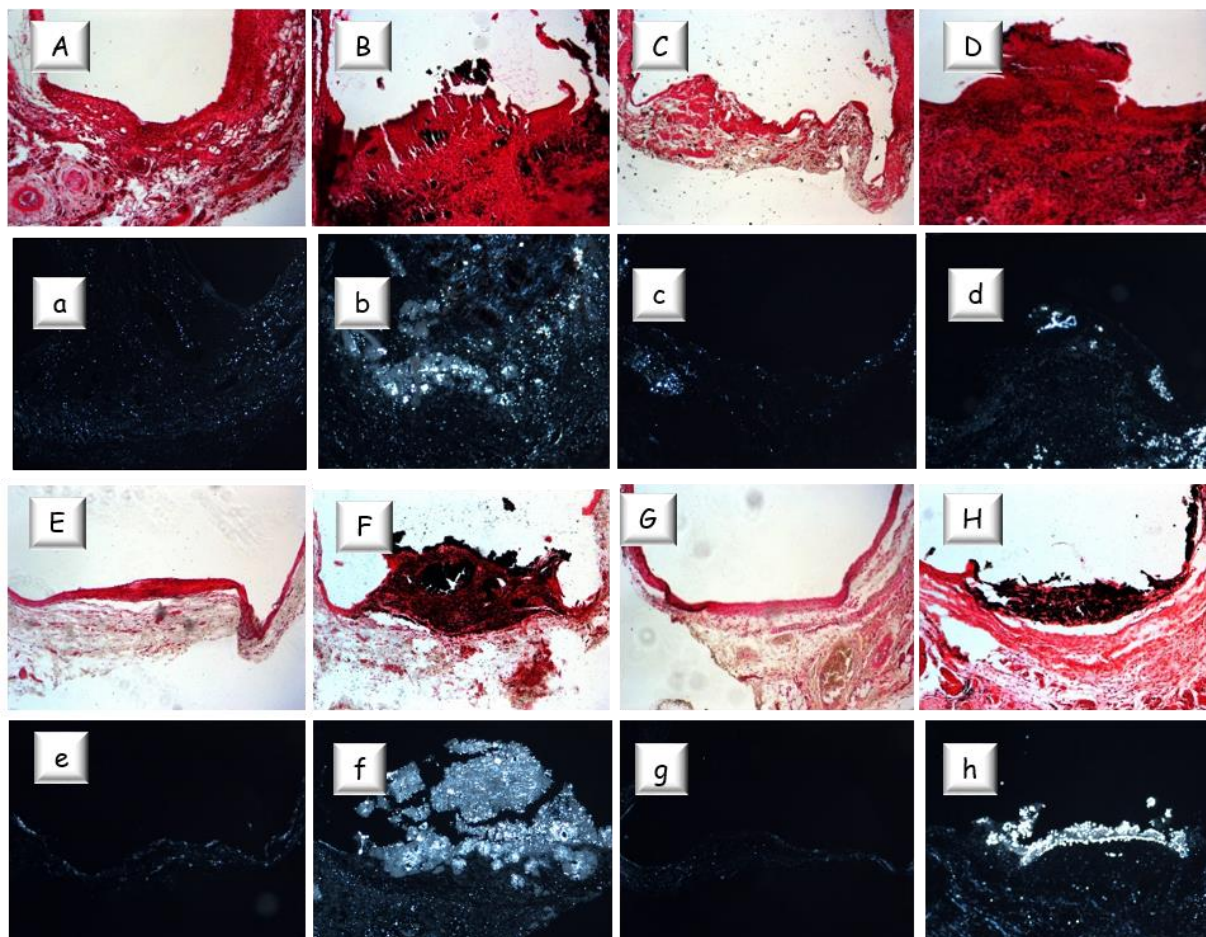
Tabela 1 - Escore para análise do processo Inflamatório e espessura da Cápsula Fibrosa de todos os grupos.

Tempo / P valor	Grupos*	Scores				Mediana	Cápsula		N
		1	2	3	4		Espessa	Fina	
7 dias P<.001	Controle ^a	0	4	3	1	2	8	0	8
	Biosealer ^a	0	0	3	5	4	8	0	
	MTA Fillapex ^a	0	0	4	4	3	8	0	
	AH Plus ^a	0	2	4	2	3	8	0	
30 dias P<.001	Controle ^a	5	3	0	0	1	0	8	8
	Biosealer ^{ab}	0	4	4	0	2	3	5	
	MTA Fillapex ^b	0	3	5	0	3	4	4	
	AH Plus ^b	0	2	6	0	3	2	6	

Fonte: Cintra, LTA et al 2017.

Para a análise de calcificação, de acordo com a tabela obtida por meio das imagens (Tabela 2), conseguimos observar que os tecidos que entraram em contato com os cimentos endodônticos MTA FILLAPEX e Biosealer tiveram calcificação. Já os tecidos que se envolveram com o material AH PLUS e o grupo controle não tiveram mineralização. Os materiais que provocaram mineralização tiveram uma porcentagem de 100%, já os que não apresentaram calcificação, obtiveram 0%. Os resultados foram evidenciados pela análise das lâminas coradas pela técnica de Von Kossa e confirmados na técnica polarizada, que não possui coloração, mas que permite identificar estruturas birrefringentes, que evidenciam a mineralização (figura 3).

Figura 3 – As letras em maiúsculo representam as imagens obtidas pela técnica de Von Kossa, já as minúsculas, a técnica Polarizada. O grupo controle está representado pela letra A e E, Grupo MTA FILLAPEX, letras B e F, Grupo AH PLUS, letras C e G e Grupo Biosealer, letras D e H.



Fonte: OLIVEIRA, PHC et al. 2017.

Tabela 2 - Indicador em porcentagem para calcificação.

Tempo / P valor	Grupos*	VK %	POL %
7 dias <i>P</i> <.001	Controle ^a	0	0
	Biosealer ^a	100	100
	MTA Fillapex ^a	100	100
	AH Plus ^a	0	0
30 dias <i>P</i> <.001	Controle ^a	0	0
	Biosealer ^{ab}	100	100
	MTA Fillapex ^b	100	100
	AH Plus ^b	0	0

Fonte: Cintra, LTA et al 2017.

5. Discussão

Estudos apontam a biocompatibilidade de compostos biocerâmicos (Jitaru S. *et al.* 2016). Um dos fatores que os tornam materiais de qualidade para a endodontia é o fato de terem ações biológicas semelhantes à hidroxiapatita (Salles L.P. *et al.* 2012, J. Stefan *et al.* 2016), o que promove formação óssea e um melhor selamento dos canais radiculares após o preparo biomecânico e medicação intra-canal, quando necessário. Apesar de apresentarem propriedades seladoras efetivas, para que sejam materiais a serem indicados para a obturação, precisam apresentar resposta tecidual e capacidade de mineralização das estruturas que os envolvem. Portanto, esse estudo foi responsável por avaliar os tecidos que entraram em contato com o material experimental, evidenciando níveis inflamatórios aceitáveis e comprovando a calcificação das regiões analisadas.

Para os resultados histológicos, temos que o MTA FILLAPEX foi responsável por provocar uma resposta inflamatória inicial pronunciada, o que é esperado, pelo fato do material apresentar MTA em sua composição, alcalinizando o meio, induzindo a inflamação dos tecidos (Tronstad L. *et al.* 1981 Cintra LTA *et al.* 2017). Entretanto, no período de 30 dias, observamos que o infiltrado inflamatório se apresentou menor que os achados iniciais. Evidências científicas mostram que esse cimento com o prolongamento dos períodos se mostra mais biocompatível, com a diminuição do infiltrado inflamatório (Gomes-Filho J.E. *et al.* 2016). Outro indicador de biocompatibilidade do material é a avaliação das cápsulas formadas nos tecidos, visto que essa resposta tem grande significância para classificarmos um material como biocompatível (Sanders JE. *et al.* 2003). Na análise das cápsulas formadas, o MTA FILLAPEX foi o cimento com menos capacidade de diminuição de espessura de acordo com o tempo. Porém, essa resposta deve ser mais bem estudada e compreendida, devido ao fato de terem sido encontrados muitos fibroblastos nesses locais, indicando o reparo. O fato de apresentarem cápsulas grossas nos períodos de 30 dias foi associado à alta

solubilidade do material, o que facilita a sua dissolução, mantendo o processo inflamatório em maior área (Silva EJ. *et al.* 2017).

O AH Plus, cimento à base de resina epóxi, apresentou uma resposta inflamatória inicial que foi reduzida no período de 30 dias. O motivo pelo qual esse material provoca essa resposta pode estar associado à liberação de formaldeído, como é observado no AH-26, que apesar de ocorrer em baixas concentrações no AH Plus, ainda se torna um motivo para explicar a permanência da cápsula fibrosa e infiltrado inflamatório (Leonardo M.R. *et al.* 1999, Gomes-Filho J.E. *et al.* 2007). Esse material, portanto também se mostrou biocompatível, assim como em estudos anteriores. (Silveira C.M.M. *et al.* 2011).

O cimento biocerâmico, apresentou-se como um material biocompatível, sendo capaz de reduzir rapidamente a inflamação inicial, com a diminuição do infiltrado inflamatório e da cápsula fibrosa, tendo um comportamento mais próximo ao grupo controle, que apenas contém os tubos de polietileno vazios, material que já vem sendo utilizado nesses estudos por terem provado sua aceitação pelos tecidos (Zimener O. *et al.* 2005). Essa resposta inicial exacerbada pode ser explicada pelo hidróxido de cálcio presente em sua composição, que é responsável por provocar respostas inflamatórias. Entretanto, esse composto não só apresenta esse comportamento negativo, como também estudos apontaram que esse componente tem a capacidade de acelerar o processo de reparo tecidual (Cintra L.T.A. *et al.* 2013), o que pode evidenciar a agilidade de sua resposta. Algo a ser é apontado é que o MTA Fillapex, mesmo possuindo hidróxido de cálcio, não teve uma redução inflamatória tão rápida quanto a do BIOEXP. Isso se deve, possivelmente, pelo fato de que o cimento avaliado possui uma composição propícia para redução inflamatória. Foram registradas evidências de que cimentos à base de biocerâmica, como o Endosequence BC sealer, possuem uma capacidade natural de se aderir às paredes dentais, devido à ligação química formada, com a indução da produção de hidroxiapatita (Vijaya Madhuri G. *et al.* 2016), além de possuírem fosfato de cálcio, aumentando a capacidade de adesão da biocerâmica com o dente (Al-Haddad, A & Che Abi Aziz, Zeti A 2016), impedindo o

extravasamento do material; portanto, gerando menos contato íntimo com os tecidos adjacentes.

A capacidade de mineralização é um importante quesito que deve ser apresentado por cimentos endodônticos, visto que a capacidade de mineralizar tecidos é de grande valia para a recuperação de estruturas perdidas, como nas periodontites apicais. Os tecidos conectivos extraídos dos animais utilizados em nosso estudo foram corados, de acordo com a técnica de Von Kossa, para observar a presença de estruturas mineralizadas e as lâminas não coradas foram utilizadas para avaliar estruturas birrefringentes na técnica polarizada, que está relacionado com a presença de cristais de carbonato de cálcio e induz a formação de áreas calcificadas (Bueno C *et al.* 2016). Os íons cálcio são responsáveis por promoverem diversos fatores, como ativação da adenosina cálcio-dependente, migração e diferenciação celular, além de formarem os cristais de cálcio, que ativam a mineralização. (Cintra LTA, *et al.* 2013).

Os materiais que possuem ou formam o hidróxido de cálcio em sua composição, apresentam elevada biomineralização, explicado pela queda de pH e dissociação de íons, sendo observados como estruturas birrefringentes nas análises. (Bueno C. et al 2016 e Gomes-Filho J.E., *et al* 2016). Sendo assim, no presente estudo, os cimentos BIOEXP e MTA Fillapex foram responsáveis por apresentarem calcificação. O material à base de resina epóxi, o AH Plus, não se apresentou como um material indutor de mineralização nesses períodos de estudo. Os cimentos à base de resina, como o Acroseal, apontado em estudos, não apresentam capacidade mineralizadora quando comparado a outros cimentos, como, por exemplo, os que são à base de Hidróxido de cálcio. Isso pode ser justificado pelo fato de sua base resinosa se apresentar insolúvel, o que impediria sua dissociação e formação de pontos de calcificação. (Bueno C. *et al.* 2016).

6. Conclusão

Concluimos que o cimento biocerâmico experimental, se apresenta como um material biocompatível e biomineralizador.

7.Referências bibliográficas

1. American National Standards Institute/Revised American National Standards Institute American Dental Association. Document No. 41. For recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. 1979. New York, NY: American National Standards Institute.
2. Batista RF, Hidalgo MM, Hernandez L, Consolaro A, Velloso TR, Cuman RK, Caparroz-Assef SM, Bersani-Amado CA. Microscopic analysis of subcutaneous reactions to endodontic sealer implants in rats. *J Biomed Mater Res A* 2007;81:171-7.
3. Bueno C.R.E., Valentim V, Marques V.A.S., Gomes-Filho J.E., Cintra L.T.A., Jacinto R.C., Dezan-Junior E.. *Braz. Oral Res.* 2016;V.30(1), N.81, P.1-9.
4. Cintra LT, Bernabé PF, de Moraes IG, Gomes-Filho JE, Okamoto T, Consolaro A, Pinheiro TN. Evaluation of subcutaneous and alveolar implantation surgical sites in the study of the biological properties of root-end filling endodontic materials. *J Appl Oral Sci* 2010;18:75-82.
5. Cintra LTA, Ribeiro TAA, Gomes-Filho JE, Bernabé PFE, Watanabe S, Facundo ACS, Samuel RO, Dezan E Jr. Biocompatibility and biomineralization assessment of a new root canal sealer and a root-end filling material. *Dental Traumatology*, 2013, V. 29, P. 145-150
6. Cintra L.T.A., Ribeiro T.A.A., Gomes-Filho J.E., Bernabé F.E., Watanabe S., Facundo A.C.S., Samuel R.O., Dezan-Junior E.. Biocompatibility and biomineralization assessment of a new root canal and root-end filling material. *Dental Traumatology* 2013, V. 29, P.145-150.

7. Cintra Cintra L.T.A., Benetti F., Queiroz I.O.A, Lopes J.M.A. Lopes, Oliveira S.H.P., Araújo G.S., Joao Eduardo Gomes-Filho J.E.. Cytotoxicity, Biocompatibility, and Biomineralization of the New High-plasticity MTA Material. JOE, V. 45, N. 5, P. 774-778.
8. Degrood ME, Oguntebi BR, Cunningham CJ, Pink R. A comparison of tissue reactions to Ketac-Fil and Amalgam. J Endod 1995;21:65-9.
9. Dunn OJ. Estimation of the means of dependent variables. Ann Math Statist. 1958; 29(4): 1095-1111. Cakici F., Cakici E.B., Ceyhanli K.T.
10. Celik E., Kucukekenci F.E., Gunseren A.O.. Evaluation of bond strength of various epoxy resin based sealers in oval shaped root canals. BMC oral Health, 2016, V. 16, N. 106.
11. Federation Dentaire International. Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials: FDI Commission of Dental Materials, Instruments, Equipment and Therapeutics. Part 4.1: subcutaneous implantation test. Int Dent J 1980; 30:140-88.
12. Geurtsen W (2001) Biocompatibility of root canal filling materials. Australian Endodontic Journal 27, 12-21.
13. Gomes-Filho JE, de Faria MD, Bernabé PF, Nery MJ, Otoboni-Filho JA, Dezan-Junior E, de Moraes Costa MM, Cannon M. Mineral trioxide aggregate but not light-cure mineral trioxide aggregate stimulated mineralization. J Endod 2008, V.34, P.62-5.
14. Gomes-Filho JE, Gomes BP, Zaia AA, Novaes PD, Souza-Filho FJ. Glycol methacrylate: an alternative method for embedding subcutaneous implants. J Endod 2001, V. 27, P.266-8.

15. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Bernabé PF, de Moraes Costa MT. A mineral trioxide aggregate sealer stimulated mineralization. J Endod 2009; 35: 256-60.
16. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Lodi CS, Cintra LT, Nery MJ, Filho JA, Dezan E Jr, Bernabé PF. Rat tissue reaction to MTA FILLAPEX(®). Dent Traumatol 2011 Dec 8.
17. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Lodi CS, Cintra LTA, Nery MJ, Filho JAO, Dezan E Jr, Bernabé PFE. Rat tissue reaction to MTA FILLAPEX . Dental Traumatology, 2012, V.28, P. 452-456.
18. Gomes-Filho J.E., Queiroz I.O.D., Watanabe S, Cintra L.T.A., Ervolino E. Influence of diabetes mellitus on the mineralization ability of two endodontic materials. Braz. oral res. V. 30, N.1 2016, P 1-7.
19. Gomes-Filho JE, Queiroz ÍO, Watanabe S, *et al*. Influence of diabetes mellitus on the mineralization ability of two endodontic materials. Braz Oral Res. 2016; 30. pii: S1806-83242016000100218.
20. Grossman LI. Endodontic Practice. 10. Philadelphia: Henry Kimpton Publishers; 1981. p. 297.
21. Guttuso J. Histopathologic study of rat connective tissue responses to endodontic materials. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1963;16: 713-27.
22. Holland R, de Souza V, Nery MJ, Bernabé FE, FILHO JA, Junior ED, Murata SS. Calcium salts deposition in rat connective tissue after the implantation of calcium hydroxide-containing sealers. J Endod 2002; 28: 173-6.
23. Holland R, Mazuqueli L, de Souza V, Murata SS, Dezan Júnior E, Suzuki P. Influence of the type of vehicle and limit of obturation on apical and

- periapical tissue response in dogs' teeth after root canal filling with mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2007; 33: 693-7.
24. Holland R, Souza V, Murata SS, Nery MJ, Bernabé PF, Otoboni Filho JA, Dezan Junior E. Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and pulp covering with mineral trioxide aggregate or Portland cement. *Braz Dent J* 2001; 12: 109-13.
25. Holland R, Souza V, Nery MJ, Otoboni Filho JA, Bernabé PFE, Dezan Junior E. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. *J Endod* 1999 ;25: 161-6.
26. Holland R, de Souza V. Ability of a new calcium hydroxide root canal filling material to induce hard tissue formation. *J Endod* 1985; 11: 535-43.
27. ISO 10993-6. Biological evaluation of medical devices. Part 6: Tests for local effects after implantation International Standard Norm, Porto, Portugal (2007).
28. ISO 10993-7. Biological evaluation of medical devices. Part 7: Ethylene oxide sterilization residuals. International Standard Norm, Porto, Portugal (1995).
29. Jitaru S., Hodisan I., Timis L., Lucian A., Bud Marius. The use of bioceramic in endodontics – Literature Review. *Clujul Medical* Vol.89, No. 4, 2016: 470-473.
30. Langeland K, Olsson B, Pascon EA. Biological evaluation of Hydron. *J Endod* 1981; 7: 196-204.

31. Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. *J Endod* 1993;19: 541-4.
32. Leonardo MR. *Endodontia - Tratamento de Canais Radiculares* 2008, 2v. 4ª ed. São Paulo: Artes Médicas.
33. Leonardo MR, Bezerra da Silva LA, Tanomaru M Filho, Santanada Silva R. Release of formaldehyde by 4 endodontic sealers. *OralSurg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1999;88(2): 221-5.
34. Lim E-S, Park Y-B, Kwon Y-S, Shon W-J, Lee K-W, Min K-S. Physical properties and biocompatibility of an injectable calcium-silicate-based root canal sealer: in vitro and in vivo study. *BMC Oral Health*. 2015, V.15, N.129.P. 1-11.
35. Miranda RB, Fidel SR, Boller MA. L929 cell response to root perforation repair cements: an in vitro cytotoxicity assay. *Braz Dent J* 2009, V. 20, P.22-6.
36. Morse DR, Martell B, Pike CG, Fantasia J, Esposito JV, Furst ML. A comparative tissue toxicity evaluation of Gutta-percha root canal sealers. Part I. Six-hour findings. *J Endod* 1984a, V.10, P. 246-9.
37. Morse DR, Martell B, Pike CG, Fantasia J, Esposito JV, Furst ML. A comparative tissue toxicity evaluation of Gutta-percha root canal sealers. Part II. Forty-eight-hour findings. *J Endod* 1984b, V. 10, P. 484-6.
38. Mutoh N, Tani-Ishii N. A biocompatible model for evaluation of the responses of rat periapical tissue to a new zinc oxide-eugenol sealer. *Dent Mater J* 2011, V.30, P.176-82.

39. Okamoto T, Russo MC. Wound healing following tooth extraction. Histochemical study in rats. Rev Fac Odont Araçatuba 1973, V. 2, P.153-69.
40. Orstavik D, Mjör IA. Histopathology and x-ray microanalysis of the subcutaneous tissue response to endodontic sealers. J Endod 1988, V. 14, P. 13-23.
41. Rowe AH. Effect of root filling materials on the periapical tissues. Br Dent J 1967, V. 122, P.98-102.
42. Safavi KE, Spangberg LS, Costa NS JR, Sapounas G. An in vitro method for longitudinal evaluation of toxicity of endodontic sealers. J Endod 1989, V. 15, P. 484-6.
43. Salles L.P., Gomes-Cornelio A.L., MSc, Guimaraães F.C., Herrera B. S., Bao S.N., Rossa-Junior C, Guerreiro-Tanomaru J.M., Tanomaru-Filho M, JOE 2012, V. 38, N. 7, P.971-976.
44. Sanders JE, Rochefort JR. Fibrous encapsulation of single polymer depends on their vertical dimension in subcutaneous tissue. Biomed Mater Res. 2003, V. 67, P. 1181-7.
45. Siegel S. Nonparametric statistics. McGraw Hil, 1956.
46. Silva L.A.B., Azevedo L.U., Consolaro A., Barnett F., Xu F., Battaglino R.A., Cañadas P.S., de Oliveira K.M.H, Silva R.A.B. Novel endodontic sealers induce cell cytotoxicity and apoptosis in a dose-dependent behavior and favorable response in mice subcutaneous tissue. Clin Oral Invest. 2017.

47. Silva EJ, Perez R, Valentim RM, **et al.** Dissolution, dislocation and dimensional changes of endodontic sealers after a solubility challenge: a micro-CT approach. *Int Endod J.* 2017;50: 407-14.
48. Silva-Herzog **D, Ramirez T, Mora J, et al.** Preliminary study of the inflammatory response to subcutaneous implantation of three root canal sealers. *Int Endod J* 2011; V.44, P.440–6.
49. Silva L.A.B, Barnett F., Pumarola-Sun J., Canadas P.S., Nelson-Filho P., Silva R.A.B. Sealapex Xpress and RealSeal XT Feature Tissue Compatibility In Vivo. *JOE.* 2014, V.40, N.9. P.1424-1428.
50. Silveira C.M.M, Pinto S.C.S., Zedebski R.A.M., Santos F.A., Pilatti G.L., Biocompatibility of Four Root Canal Sealers: A Histopathological Evaluation in Rat Subcutaneous Connective Tissue. *Braz Dent J* (2011) 22(1): 21-27.
51. Tanomaru JM, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Bonetti Filho I, Silva LA. Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS. *Int Endod J* 2003, V. 36, P. 733-9.
52. Torabinejad M, Chivian N. Clinical application of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 1999, V. 25, P. 197-205.
53. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod* 1995, V. 21, P. 349-53.
54. Willershausen I, Callaway A, Briseño B, Willershausen B. In vitro analysis of the cytotoxicity and the antimicrobial effect of four endodontic sealers. *Head Face Med* 2011, V. 7, P. 15.

55. Zmener O, Banegas G, Pameijer CH. Bone tissue response to a methacrylate-based endodontic sealer: a histological and histometric study. J Endod 2005, V. 31, P.457–9.
56. Tronstad L., DMD, J. Andreasen O., Hasselgren G., Kristerson L., Riis I. Changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide., JOE , 1981, V. 7, N. 1, P. 17-21.
57. Vijaya Madhuri G., Varri S., Shaik J. Comparison of bond strength of different endodontic sealers to root dentin: An *in vitro* push-out test. J. Conserv Dent, 2016, V. 19, N.5, P. 461-464.
58. Stoll R, Betke K, Stachniss V (2005) The influence of different factors on the survival of root canal fillings: a 10-year retrospective study. J Endod V. 31, N.11, 2005, P.783–790.
59. Wolters W.J., Duncan H.F., Tomson P.L., Karim I.E. Mckenna G., Dorri D. Stangvaltaite L., Van der Sluis L.W.M. Minimally invasive endodontics: a new diagnostic system for assessing pulpitis and subsequent treatment needs. International Endodontics Journal V.50, N.9, 2017, P.825-829.
60. Ørstavik D. Materials used for root canal obturation: technical, biological and clinical testing. Endodontic Topic. 2005; V.12, N.1, P. 25–38.