

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP

Faculdade de Odontologia

Campus de Araraquara

Programa de Pós-Graduação em Odontologia

Guilherme Ferreira da Silva



***Reação histológica do periodonto, subjacente à
região de furca perfurada e preenchida com
diferentes materiais, em molares de ratos***

ARARAQUARA

2008

Guilherme Ferreira da Silva

**Reação histológica do periodonto, subjacente à região de
furca perfurada e preenchida com diferentes materiais, em
molares de ratos**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Endodontia, da
Faculdade de Odontologia de Araraquara da
Universidade Estadual Paulista, como
requisito para obtenção do Título de Mestre
em Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Cerri

ARARAQUARA

2008

DADOS CURRICULARES

Guilherme Ferreira da Silva

Filiação: José Rui Ferreira da Silva
Marcirene Gabriel da Silva

Data de Nascimento: 13/01/1981

2000-2003: Curso de Graduação em Odontologia pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Campus de Araraquara.

2006-2008: Curso de Pós Graduação, mestrado em Endodontia, pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Campus de Araraquara.

Dedicatória Especial

À minha família:

Esta conquista também é de vocês!

Aos meus queridos pais, **José Rui e Marcirene**, exemplos de luta, dignidade e honestidade. Pais dedicados e presentes em todos os momentos da minha vida que sempre sacrificaram suas vidas pela minha formação moral e profissional.

Obrigado pela confiança e apoio em todas as minhas decisões.

À minha irmã, **Helena**, pela convivência durante todos esses anos e que mesmo à distância sempre me ajudou e torceu por mim.

Dedicatória

À Ana Carolina

Obrigado pelo carinho, atenção, pela paciência, por suportar e saber entender minha ausência e por estar ao meu lado nos momentos difíceis. Pelos conselhos, pelas broncas, por me tirar da rotina e pela companhia.

Acima de tudo por ser minha amiga que admiro e em quem confio.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Paulo Sérgio Cerri**

Profissional dedicado e responsável. Exemplo de professor, que tive a oportunidade de conhecer na graduação e o privilégio de conviver durante este mestrado. Obrigado pela amizade, sinceridade, ensinamentos, paciência, por saber compreender minhas dificuldades e, acima de tudo, pela total dedicação na elaboração desta dissertação.

Agradecimentos Especiais

Ao Prof. Dr. Mário Tanomaru Filho

Professor que admiro e que me serve como exemplo profissional, pela sua honestidade, responsabilidade, humildade e por sua dedicação. Obrigado pelas oportunidades, por sempre ter confiado no meu trabalho e por despertar em mim o desejo científico.

A Profa. Dra. Juliane M.G. Tanomaru

Obrigado pelos ensinamentos e convívio durante meu estágio de docência. Por estar sempre pronta a me atender e por confiar em mim. Pelo apoio, amizade e respeito com que sempre me tratou.

A Profa. Dra. Estela Sasso Cerri,

Pela contribuição, orientação e sugestões durante a elaboração final desta dissertação. Pelo convívio e amizade durante todo o meu curso de mestrado.

A meu grande amigo **Vinicius**, um irmão

Obrigado pela amizade durante todos esses anos e por fazer questão em estar sempre presente em momentos importantes da minha vida e da minha família.

Agradecimentos

A Faculdade de Odontologia de Araraquara, nas pessoas do **Prof. Dr. José Cláudio Martins Segalla** (Diretor) e da **Profa. Dra. Andréia A. B. Montandon** (Vice-Diretora).

Aos professores do Departamento de Endodontia desta Instituição: **Prof. Dr. Fábio Luiz Camargo Villela Berbert**, **Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho**, **Prof. Dr. Renato de Toledo Leonardo**, **Prof. Dr. Roberto Miranda Esberard**. Meu respeito pelo aprendizado e pelas lições transmitidas tanto durante a graduação quanto no mestrado. Por terem despertado em mim a paixão pela Endodontia. Obrigado pela oportunidade de convívio, pelo companheirismo, amizade e pela contribuição na minha formação profissional.

Ao **Prof. Dr. Carlos Benatti Neto**, por fazer parte da minha formação durante a graduação e pós-graduação e pela oportunidade de convivência e amizade fora da faculdade. Pelas sugestões durante o Exame Geral de Qualificação que contribuíram, e muito, para a melhora deste trabalho. Pelo exemplo de professor e por estar sempre disposto a esclarecer minhas dúvidas.

Aos colegas do curso de mestrado, **Adriana**, **Cláudia**, **Érica**, **Fernando**, **Frederico**, **Hugo** e **Norberto**, pelo companheirismo e amizade.

A **Luis Antônio Potenza**, pela amizade e pelos ensinamentos na parte laboratorial. Pela dedicação e capricho durante todo o processamento histológico.

Aos funcionários do Serviço de Emergência da Faculdade de Odontologia de Araraquara, especialmente **Fátima, Ângela e Guto**, acima de tudo pela amizade.

Obrigado pela paciência, por me respeitar e me acolher durante meu estágio.

Aos colegas **Ana Paula, Breno, Flávia, Mady e Pedrinho** pela boa convivência e por estarem sempre dispostos a me ajudar.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, **Mara, Rosângela e Alexandre**, pelo profissionalismo e pela ajuda sempre que preciso.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araraquara por toda ajuda e atenção que sempre colocaram à disposição.

A todos aqueles que de alguma forma ajudaram na elaboração e na melhora desta dissertação contribuindo para que eu atingisse esta meta.

Sumário

Resumo	10
Abstract	12
1 Introdução	17
2 Revisão da Literatura	21
2.1 Perfurações	21
2.2 Materiais	30
2.2.1 Óxido de Zinco e Eugenol (OZE)	30
2.2.2 Mineral Trióxido Mineral (MTA)	39
2.2.3 Endo-C.P.M.-Sealer®	50
3 Proposição	53
4 Material e Método	55
4.1 Animais	55
4.2 Técnica	57
4.3 Preparo Histológico	58
4.3.1 Método do TRAP	59
4.4 Métodos de análise dos resultados	60
4.4.1 Análise morfológica	60
4.4.2 Análise morfométrica	60
4.4.2.1 Espessura do Espaço Periodontal	60
4.4.2.2 Número de Células Inflamatórias	61
4.4.2.3 Número de Osteoclastos	61
4.5 Análise estatística	62
5 Resultado	64
5.1 Análise Morfológica	64
5.1.1 Grupo Controle	64
5.1.2 Grupo MTA	67
5.1.3 Grupo CPM	72
5.1.4 Grupo OZE	77
5.2 Análise Morfométrica	82
5.2.1 Espessura do Ligamento Periodontal	82
5.2.2 Número de Células Inflamatórias	86
5.2.3 Número de osteoclastos TRAP-positivos	90
6 Discussão	95
6.1 Modelo experimental	95
6.2 Técnica empregada	96
6.3 Materiais empregados	98

6.4 Reação dos materiais no ligamento periodontal	100
7 Conclusão	109
8 Referências	112
Anexos	126

RESUMO

Silva GF. Reação histológica do periodonto, subjacente à região de furca perfurada e preenchida com diferentes materiais, em molares de rato [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008.

Resumo

O sucesso do tratamento de dentes com perfurações de furca está diretamente relacionado ao tipo de material utilizado no preenchimento destas perfurações. Um material selador ideal deve possuir boas propriedades físicas, químicas e biológicas, sendo, o Mineral Trióxido Agregado (MTA) um dos materiais indicados. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a resposta biológica de três materiais seladores: MTA-Angelus branco® (MTA), Endo-C.P.M.-Sealer® (CPM) e cimento de óxido de zinco e eugenol (OZE). Para isso, foram utilizados os primeiros molares superiores de 60 ratos; o primeiro molar superior do lado esquerdo hígido foi utilizado como controle e o do lado direito foi realizada a perfuração no assoalho da câmara pulpar com uma fresa nº ¼. Os materiais foram manipulados e inseridos na perfuração e a cavidade de acesso foi selada com ionômero de vidro. Decorrido os períodos de 07, 15, 30 e 60 dias, os animais foram sacrificados e os fragmentos das maxilas removidos e fixados em formaldeído. Após a descalcificação em EDTA, os fragmentos de maxila foram desidratados, diafanizados e incluídos em parafina. Os cortes foram corados com hematoxilina & eosina (H&E), tricrômico de Masson ou submetidos ao método do TRAP ("Tartrate Resistant Acid Phosphatase") para realização das análises morfológica e morfométrica. A análise morfométrica foi realizada sob três parâmetros: espessura do ligamento periodontal (LP), número de células inflamatórias/mm² (CI) e número de osteoclastos TRAP-positivos. Os resultados morfométricos revelaram aumento significativo ($p \leq 0,05$) no espaço do LP, em todos os períodos, em relação ao controle. Entretanto, aos 60 dias, este espaço foi menor em todos os grupos experimentais; o OZE foi o que provocou maior espessamento do LP, não havendo diferenças significantes entre MTA e CPM, no período de

60 dias. No período de 7 dias, foi verificado um grande nº. de CI em todos os grupos, principalmente no OZE. A partir deste período, o nº. de CI diminuiu gradativamente; os grupos CPM e MTA apresentaram uma menor densidade destas células, em todos os períodos, em relação ao OZE. O número de osteoclastos TRAP-positivos/mm de superfície óssea foi maior para o OZE em todos os períodos analisados em comparação aos outros grupos. Nos grupos MTA e o CPM, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes no número de osteoclastos nos períodos de 15, 30 e 60 dias. Além disso, aos 60 dias, não houve diferença significativa no número de osteoclastos entre os grupos CPM, MTA e controle. A redução no espessamento do LP, em relação ao período inicial (07 dias), deve-se a diminuição no processo inflamatório associado ao menor número de osteoclastos TRAP-positivos/mm de superfície do processo alveolar. Além da redução do número de osteoclastos, a presença de numerosos osteoblastos, formando uma camada contínua na superfície óssea, indica a formação óssea no processo inter-radicular. Somente no grupo MTA, foi observada neoformação de tecido mineralizado, com aspecto semelhante ao tecido ósseo, no ligamento periodontal, subjacente à perfuração do assoalho da câmara pulpar. Apesar da resposta inflamatória, induzida pelo CPM, ter sido menor em comparação ao MTA em todos os períodos analisados, aos 60 dias, não houve diferença no número de osteoclastos e na espessura do ligamento periodontal entre os grupos MTA e CPM. Os nossos resultados mostraram, portanto, que os materiais à base de MTA apresentam maior biocompatibilidade em relação ao OZE.

Palavra-chave: Endodontia; teste de materiais; ligamento periodontal; ratos

ABSTRACT

Silva GF. Hystologic reaction of periodontium under furcal perforation sealed with diferents materials in molar rats [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2008

Abstract

The therapy success in the treatment of root perforations depends on the material used to fill them. The best sealing material should present good physical, chemical and biological properties. More recently, the mineral trioxide aggregate (MTA) has been indicated for sealing of root perforations. Thus, the aim of the present study was to evaluate the biological response of three sealing materials: White MTA-Angelus (MTA), Endo-C.P.M.-Sealer (CPM) and zinc-oxide and eugenol cement (OZE). Sixty adult rats weighing 250g were divided into three groups: MTA, CPM and OZE. Furcal perforations were performed in maxillary first molars with a round bur no. 1/4; the contra-lateral maxillary first molars – without perforations - were used as control. The perforations were carried out and the materials were placed into these defects; access cavities were sealed with glass ionomer. After 07, 15, 30 and 60 days, the animals were killed, and fragments of maxilla containing first molars were removed and immediately immersed in 4% formaldehyde. After decalcification in EDTA, the specimens were processed and embedded in paraffin. Sections were stained with hematoxylin-eosin, Masson's trichrome and submitted to TRAP (Tartrate Resistant Acid Phosphatase) reaction. The morphometric analysis, in the furcation region of the periodontal ligament, was performed considering three parameters: thickness of periodontal ligament (PL), number of inflammatory cells (IC) and number of TRAP-positive osteoclasts in the alveolar bone surface. The experimental groups showed, in all periods, significant increase ($p \leq 0.05$) in the PL thickness in comparison to control group; this thickness was more accentuated in the OZE group. The periodontal space in the CPM group was less thick in all experimental periods in comparison to MTA and OZE groups, except in the period of 60 days; in this period, statistical differences in the periodontal space were not detected between CPM and

MTA groups. At 7 days, a large number of IC was verified in all groups, especially in OZE; from 7 to 60 days, the number of IC decreased gradually. Quantitative analysis revealed a significant increase in the number of TRAP-positive osteoclasts in the OZE group, in all periods studied, in comparison to the other groups. In CPM and MTA groups, the number of osteoclasts was not statistically different in the periods of 15, 30 and 60 days. Moreover, in the period of 60 days, no significant differences were observed in the number of osteoclasts, among CPM, MTA and control groups. The decrease of the inflammatory process and in the number of TRAP-positive osteoclasts, observed at 60 days, may be responsible for periodontal space reduction, in relation to initial period (7 days). In addition to reduction in the osteoclast number, the presence of numerous osteoblasts forming a continuous layer on the bone surface indicates bone formation in the interradicular process. Only in the MTA group, a neoformed mineralized tissue, exhibiting similar aspect to bone tissue, was observed in the periodontal ligament subjacent to furcal perforation. Although the inflammatory response, induced by CPM, was lower than in MTA in all periods, at 60 days, differences in the number of osteoclasts and thickness of periodontal ligament were not significant between these groups. Therefore, our results indicate that MTA based materials seems to be more biocompatible than OZE.

Key words: Endodontics; material's test; periodontal ligament; rats

INTRODUÇÃO

1 Introdução

O Glossário de Termos Endodônticos da Associação Americana de Endodontia⁵ define como perfuração a comunicação mecânica ou patológica entre o sistema de canais radiculares e a superfície externa do dente. As causas principais das perfurações são cárie, reabsorções e/ou fatores iatrogênicos⁹³. Em Endodontia, as perfurações podem ocorrer durante as várias fases do tratamento. Durante a abertura coronária, o desconhecimento da anatomia dental ou o erro na direção de penetração da fresa pode ocasionar uma perfuração no assoalho da câmara pulpar. Erros durante a instrumentação ou durante a obturação do canal radicular podem promover o surgimento de perfurações radiculares laterais¹⁹.

A perfuração causa injúria aos tecidos adjacentes, inflamação, reabsorção óssea, destruição do ligamento periodontal, além de permitir a invasão bacteriana. Todos esses fatores, aliados ao não selamento imediato da perfuração, podem determinar um prognóstico desfavorável à manutenção do dente^{89,93}.

Modelos de estudo em animais, realizando-se perfurações no assoalho da câmara pulpar, são necessários para a reprodução das condições histopatológicas e avaliação do reparo histológico produzido pelos diferentes materiais seladores. Vários estudos têm sido realizados em dentes de cães com perfurações de furca^{3,8,20,46,73,113}. No entanto, modelos experimentais alternativos têm sido utilizados em outros animais de mais fácil obtenção como os ratos⁴⁰.

Um material para ser considerado ideal como selador de perfurações deve apresentar características físicas, químicas e biológicas adequadas. Além de possuir uma boa atividade antimicrobiana, baixa solubilidade, ser resistente ao deslocamento e possuir boa adaptação

marginal, os materiais devem apresentar biocompatibilidade e potencial para indução de tecido mineralizado. Vários estudos vêm sendo realizados na busca por um material que preencha estes requisitos e que permita o processo de reparação dos tecidos subjacentes às perfurações. Dentre os materiais estudados, os mais citados são o amálgama, Cavit, hidróxido de cálcio, óxido de zinco e eugenol, guta-percha, hidroxiapatita, ionômero de vidro modificado por resina^{3,8,20,31} e o Mineral Trióxido Agregado (MTA)^{45,47,73,79,113}.

O MTA apresenta vantagens em relação a outros tipos de materiais, como por exemplo, maior capacidade seladora e maior adaptação marginal^{62,105-106}, além da possibilidade de utilização na presença de umidade¹⁰². No entanto, há algumas desvantagens quando se utiliza o MTA, tendo em vista, este material apresentar longo tempo de presa e dificuldade de manuseio e inserção na cavidade²². Assim, vem sendo sugerida a adição de alguns outros materiais ao MTA com o objetivo de solucionar estes problemas^{16-18,57}.

O cimento endodôntico Endo-C.P.M.-Sealer® surgiu no mercado com a expectativa de associar as características físicas e químicas de um cimento endodôntico obturador de canais radiculares às propriedades biológicas do MTA. Este cimento apresenta em sua fórmula, entre outros componentes, o cloreto de cálcio, um acelerador de presa¹, e o propilenoglicol, utilizado como veículo⁴⁵, podendo, assim, ser utilizado tanto na obturação de canais radiculares como no selamento de perfurações³².

Assim, um estudo realizando uma perfuração no assoalho da câmara pulpar em dentes de ratos, criando uma situação semelhante à que ocorre na prática endodôntica, poderá adicionar informações importantes sobre o comportamento biológico de dois materiais à base de

MTA, comparando-os com o cimento de óxido de zinco e eugenol, na resposta reparativa/regenerativa do periodonto adjacente à região de furca.

REVISÃO DA LITERATURA

2 Revisão da Literatura

Esta revisão de literatura foi escrita de maneira que os assuntos envolvidos na pesquisa fossem divididos e descritos em ordem cronológica crescente. Desta forma, esta revisão encontra-se dividida em item 2.1 para perfurações e 2.2 para materiais o qual subdividi-se em 2.2.1 para óxido de zinco e eugenol (OZE), 2.2.2 para mineral trióxido agregado (MTA) e 2.2.3 para Endo C.P.M. – Sealer®.

2.1 Perfurações

As perfurações dentais, sejam elas no assoalho da câmara pulpar ou na superfície radicular, estabelecem uma comunicação entre a cavidade pulpar e o periodonto de sustentação, sendo que o sucesso do tratamento depende de sua localização, amplitude, ausência de contaminação e do material selador utilizado^{19,93}.

Seltzer et al.⁸⁹ realizaram perfurações no assoalho da câmara pulpar em 21 dentes de seis macacos. Em sete dentes, as perfurações foram imediatamente fechadas somente com óxido de zinco e eugenol ou com óxido de zinco e eugenol recoberto com amálgama. Em oito dentes, as cavidades foram seladas em intervalos diferentes (de seis a dez meses após a realização das perfurações) e mantidas seladas pelo mesmo período. Em seis dentes, nenhuma das perfurações realizadas recebeu selamento, permanecendo a câmara pulpar exposta ao meio bucal de seis a oito meses. Em todos os casos ocorreram danos ao periodonto, como por exemplo, proliferação epitelial, infiltrado inflamatório e reabsorções cementárias e dentinárias, porém as destruições mais severas ocorreram quando as perfurações não foram seladas. Nesses casos pôde-se observar tecido de granulação invadindo a região da perfuração, formando uma massa

polipóide, infiltrado inflamatório crônico, extensa reabsorção do processo alveolar e do septo inter-radicular, estendendo-se até o ápice do dente.

Sinai⁹³ descreveu as principais causas das perfurações e os fatores que influenciam no prognóstico do seu tratamento. As perfurações podem ser provocadas por fatores iatrogênicos, cárie ou processos de reabsorção sendo que o prognóstico do tratamento está diretamente relacionado com o local da perfuração e o selamento imediato da mesma. Segundo o autor, uma perfuração localizada no 1/3 cervical ou na região de furca é mais prejudicial ao prognóstico do tratamento pois pode criar uma comunicação com o sulco gengival causando um defeito periodontal. As perfurações devem ser seladas imediatamente com o objetivo de proteger a área de contaminação reduzindo, assim, a possibilidade de infiltração bacteriana e alterações inflamatórias. Ainda, nas perfurações localizadas no 1/3 apical, é importante a realização do tratamento endodôntico com isolamento absoluto também visando a não contaminação e diminuindo a possibilidade de problemas no periodonto adjacente.

ElDeeb et al.³¹ propuseram-se a comparar as alterações clínicas, radiográficas e histológicas em resposta a três materiais utilizados na reparação de perfurações de furca. As perfurações foram realizadas nos pré-molares e molares, superiores e inferiores de quatro cães, totalizando 64 perfurações. Depois do tratamento endodôntico, foram confeccionadas, com uma broca esférica nº 4, perfurações na área de furca. Os 64 dentes foram divididos eqüitativamente em três grupos de acordo com o material utilizado no selamento das perfurações (amálgama, Cavit e hidróxido de cálcio), além do grupo controle. A cavidade oclusal foi restaurada com amálgama. Durante três meses, os dentes foram examinados clínica e radiograficamente. Depois desse período, os animais foram sacrificados. Radiograficamente, o menor número de dentes que apresentaram reabsorção inter-radicular ocorreu quando a perfuração foi selada com amálgama. Sendo o pior resultado

encontrado com o hidróxido de cálcio. Histologicamente, em todos os grupos foi observado infiltrado inflamatório crônico moderado. Nas perfurações seladas com amálgama ocorreu reabsorção óssea, cementária e dentinária localizada; somente em 37,5% dos casos foi observada neoformação óssea. Com o Cavit, em todos os casos ocorreu reabsorção da crista óssea, não sendo observadas áreas de neoformação óssea. Já com o hidróxido de cálcio, o osso alveolar adjacente foi reabsorvido por toda extensão do canal radicular, formando bolsa periodontal e em 37,5% dos casos havia evidência de atividade osteoblástica, com os osteoblastos ao redor do osso trabecular.

Aguirre et al.³ estudaram a resposta dos tecidos de suporte a perfurações de furca utilizando amálgama (grupo 1), guta-percha (grupo 2) e “indium foil” (grupo 3). Para isso, após o tratamento endodôntico, foram confeccionadas perfurações no assoalho da câmara pulpar do segundo, terceiro e quarto pré-molares da maxila de oito cães que foram, imediatamente, preenchidas com os três materiais testados. A restauração da porção coronária realizou-se com amálgama. Os animais foram sacrificados após dois e seis meses. Clinicamente, todos os grupos apresentaram envolvimento de furca aos dois meses, sendo que esse envolvimento aumentou aos seis meses. Radiograficamente, o grupo com “indium foil”, aos dois meses, apresentou os maiores índices de reabsorção óssea, sendo que aos seis meses os melhores resultados foram encontrados com o amálgama. Histologicamente, no grupo 1, houve a presença de infiltrado inflamatório crônico que tendeu a decrescer no período de seis meses e reabsorção inter-radicular discreta. No grupo 2, também observaram infiltrado inflamatório crônico pequeno, com áreas de reabsorção óssea moderada e evidências de neoformação óssea. Já o grupo 3, apresentou infiltrado inflamatório severo, além de áreas de reabsorção óssea e radicular severas.

Bramante, Berbert²⁰ realizaram perfurações na área de furca em 15 pré-molares inferiores e superiores de quatro cães. Um grupo dessas perfurações foi preenchido com uma pasta aquosa de hidróxido de cálcio e iodoformio (grupo A). Outro grupo foi selado com óxido de zinco e eugenol (grupo B) e em um terceiro grupo não foi realizado preenchimento das perfurações (grupo C). No grupo A, pôde-se observar calcificação no local da perfuração, com infiltrado inflamatório não significativo. No grupo B, foram observadas áreas de necrose, com infiltrado inflamatório severo e formação de abscesso. O tecido ósseo apresentou reabsorção envolvendo quase toda a crista alveolar. No grupo C (controle), na maioria dos casos, havia a presença de infiltrado inflamatório severo, com formação de abscesso. A crista alveolar foi totalmente destruída e grandes áreas de dentina e cimento reabsorvidas.

Hamamoto et al.⁴⁰ estudaram as alterações histológicas nos tecidos periodontais após perfurações em molares de ratos. Essas perfurações foram realizadas no assoalho da câmara pulpar e permaneceram expostas ao meio bucal por 01, 02, 04 e 08 semanas. Após 01 e 02 semanas, foram observadas estruturas epiteliais ovaladas no terço apical do canal radicular com células cementárias diferenciando-se ao redor. Quatro e oito semanas após a intervenção, houve reabsorção óssea na região de furca, destruição dos tecidos periodontais e subsequente proliferação epitelial.

Balla⁸ analisou a reação histológica de três materiais utilizados no reparo de perfurações de furca: fosfato tricálcio, hidroxiapatita, amálgama e Life. Para isso, foram criadas 120 perfurações de furca nos molares e pré-molares, superiores e inferiores, de seis macacos. Um molar superior e um molar inferior hígido de cada animal serviram como controle. Após o selamento cuidadoso das perfurações, os animais foram sacrificados em intervalos de 2, 4 e 6 meses após o experimento. Com fosfato tricálcio,

observou-se, após 2 meses, células inflamatórias agudas, tecido epitelial invadindo a perfuração, reabsorção do osso alveolar na região de furca e presença de bactérias Gram-positivas. Nos períodos experimentais mais longos (4 e 6 meses), houve diminuição da inflamação. Já com hidroxiapatita, aos 2 meses, constataram áreas de necrose e acúmulo de células inflamatórias de processo agudo na região da perfuração. Também, nos períodos experimentais mais longos, houve uma diminuição da inflamação. Resposta similar apresentou o grupo onde as perfurações foram seladas com Life. Finalmente, com a utilização do amálgama, somente em um caso, aos 2 meses, observou-se infiltrado inflamatório severo. Aos 6 meses, as perfurações foram preenchidas por tecido conjuntivo denso com mínimo de inflamação e reabsorção óssea, apresentando os melhores resultados.

Pitt Ford et al.⁷⁹ investigaram a resposta histológica em decorrência de perfurações de furca criadas em 28 pré-molares de sete cães. Em metade dos dentes, as perfurações foram preenchidas imediatamente com amálgama ou com MTA. No restante, as cavidades criadas foram expostas ao meio bucal por 6 semanas e depois seladas com os mesmos materiais já citados. As restaurações foram realizadas com MTA. O sacrifício dos animais ocorreu 4 meses após o experimento. Nas perfurações seladas imediatamente com MTA, houve pouco infiltrado inflamatório e formação de cimento em contato com o material em cinco dentes. Já o amálgama sempre esteve associado à presença de infiltrado inflamatório de moderado a severo. Nas cavidades deixadas expostas ao meio bucal, três das sete perfurações preenchidas com MTA estavam livres de inflamação, além disso, observaram a formação de ponte de cimento em contato com o material. Em contraste, o grupo do amálgama sempre apresentou infiltrado inflamatório severo de grande extensão, além da presença de bactérias em três casos e proliferação do epitélio sulcular para a área perfurada.

Nakata et al.⁷¹ utilizaram quarenta e dois molares humanos extraídos para a realização de um estudo sobre a capacidade seladora do MTA e do amálgama em perfurações radiculares laterais. Em trinta e nove dentes foram confeccionadas as perfurações, com o auxílio de uma fresa esférica, e as cavidades criadas preenchidas com os materiais em estudo. Os demais dentes serviram como controle. Os dentes foram armazenados em um meio de cultura bacteriana contendo *Fusobacterium nucleatum*. Após quarenta e cinco dias, os resultados demonstraram que 8 dos 18 dentes em que as perfurações foram preenchidas com amálgama apresentaram penetração bacteriana, enquanto no grupo com MTA não houve infiltração bacteriana em nenhuma das amostras.

Holland et al.⁴⁶ analisaram o processo de reparo de perfurações radiculares laterais preenchidas com MTA ou Sealapex. Quarenta e oito canais radiculares de cães foram submetidos ao tratamento endodôntico. Depois disso, com o auxílio de uma fresa Gates-Glidden, a guta percha foi removida e com uma fresa LN confeccionou-se a perfuração entre o terço cervical e médio do canal radicular. Após o controle da hemorragia, as perfurações foram seladas com os materiais já citados. O sacrifício dos animais ocorreu 30 e 180 dias após o tratamento. Trinta dias após o tratamento, quatro casos reparados com MTA apresentaram deposição de cimento sobre o material. No grupo onde as perfurações foram seladas com Sealapex, seis casos mostraram reação inflamatória crônica, sendo que o tecido periodontal adjacente à perfuração estava necrótico. Após 180 dias, nove casos apresentaram deposição cementária sobre o material e em dez espécimes não havia sinais de inflamação quando o material testado era o MTA. No mesmo período, o grupo com Sealapex exibiu três casos de deposição de cimento sobre o material, além disso, todos os espécimes apresentaram reação inflamatória crônica com células gigantes e numerosos macrófagos.

Yildirim et al.¹¹³ observaram a resposta histológica do MTA e do Super EBA quando utilizados no selamento de perfurações em dentes de cães. Para isso, foram utilizados noventa pré-molares e molares de nove cães divididos em três grupos: 72 perfurações foram preenchidas com MTA ou Super EBA (36 cada) e 18 dentes foram utilizados como controle. Primeiramente, foi realizado o tratamento endodôntico e depois de uma semana confeccionaram-se as perfurações. As restaurações foram realizadas com cimento de Grossman. O sacrifício dos animais ocorreu nos intervalos de 01, 03 e 06 meses. O grupo em que as perfurações foram preenchidas com Super EBA mostrou inflamação moderada nos primeiros períodos experimentais mas, aos seis meses, reação inflamatória severa foi observada. Já com MTA, pequena inflamação foi observada no período experimental de 01 mês que diminuiu aos 03 meses e regrediu, totalmente, aos 06 meses. Ocorreu neoformação cementária em contato com o MTA em todos os períodos. No grupo controle, o tecido periodontal mostrou-se normal, ou seja, sem inflamação.

Noetzel et al.⁷³ avaliaram as reações inflamatórias e resposta tecidual ao MTA e a um cimento experimental de fosfato tricálcio (TCP) quando utilizados como materiais reparadores em perfurações de furca em dentes de cães. Para isso, foram confeccionadas perfurações na região de furca de 24 pré-molares de seis cães. Após o preenchimento das perfurações com os materiais citados, realizou-se o tratamento endodôntico. As restaurações foram realizadas com resina fotopolimerizável. O sacrifício dos animais ocorreu após 12 semanas e, então, os fragmentos das mandíbulas foram radiografados. Radiograficamente, em seis casos do MTA e em três do TCP não houve perda óssea na região de furca. Os maiores defeitos ósseos foram vistos nos dentes tratados com TCP, em um total de cinco. Histologicamente, considerando os níveis de inflamação, o MTA apresentou melhores resultados em relação ao TCP, com menor número de

células inflamatórias. Os dois grupos apresentaram evidências de neoformação óssea, sem diferença estatística significativa entre eles.

Al-Daafas, Al-Nazhan⁴ investigaram o processo de reparo histológico de perfurações de furca em dentes de cães preenchidas com MTA, com ou sem sulfato de cálcio utilizado como uma matriz interna, ou amálgama. Foram utilizados 72 dentes inferiores e superiores de 9 cães que tiveram os canais radiculares instrumentados e obturados. Então, foi confeccionada, com o auxílio de uma fresa esférica, uma perfuração de 1,4 mm de diâmetro no centro do assoalho da câmara pulpar. A cavidade de acesso de todos os dentes foi exposta ao meio bucal por 4 semanas para contaminação bacteriana. Depois desse período, as perfurações foram curetadas para a remoção de tecido inflamado, irrigadas com hipoclorito de sódio 2,5 % e secas com cones de papel. Os dentes foram divididos em grupos experimentais da seguinte maneira: grupo 1, controle negativo (não foi confeccionada nenhuma perfuração); grupo 2, controle positivo (a perfuração não foi selada com nenhum material); grupo 3, MTA como material selador da perfuração; grupo 4, MTA como material selador colocado sobre um assoalho artificial de sulfato de cálcio; grupo 5, preenchimento da perfuração com amálgama; grupo 6, amálgama sobre sulfato de cálcio. O sacrifício ocorreu após 4 meses do tratamento sendo a maxila e mandíbula removidas e submetidas ao processamento histológico. Quando somente o MTA foi utilizado para o selamento da perfuração, a maioria dos espécimes não apresentou inflamação sendo observada a deposição de cimento em contato com o material; o uso do sulfato de cálcio sob o MTA provocou infiltrado crônico de intensidade moderada e, em 40% dos casos, houve a neoformação cementária. A utilização de somente o amálgama como material selador da perfuração ou sob o sulfato de cálcio ocasionou infiltrado inflamatório moderado, não sendo observada a deposição de cimento. A análise estatística não revelou diferença estatística

significante entre nenhum dos grupos, levando os autores concluir que o prognóstico no tratamento de perfurações é influenciado negativamente pelo não selamento imediato da mesma.

Holland et al.⁴⁵ avaliaram o processo de reparo de perfurações laterais preenchidas com MTA, previamente contaminadas ou não. Foram utilizados 15 pré-molares de 2 cães que tiveram seus canais radiculares instrumentados e obturados. Então, com o auxílio de uma fresa de Largo nº 2, o material obturador foi removido até o 1/3 médio para a realização, com uma fresa esférica nº 1/4, da perfuração na superfície radicular. Foram estabelecidos 3 grupos experimentais da seguinte maneira: grupo 1, as perfurações foram seladas imediatamente; grupo 2, a câmara pulpar foi exposta por 7 dias ao meio bucal para contaminação; grupo 3, depois de 7 dias de contaminação, as perfurações foram preenchidas com uma pasta de hidróxido de cálcio e água bi-destilada e a cavidade foi restaurada provisoriamente com um cimento à base de óxido de zinco e de sulfato de zinco. Depois de 2 semanas, a restauração foi removida e as perfurações limpas e depois preenchidas com MTA. O sacrifício dos animais ocorreu após 90 dias do tratamento, sendo as mandíbulas removidas e submetidas ao processamento histológico. No grupo 1, em todos os casos foi observada a formação de cimento fechando a comunicação com o ligamento periodontal estando este parcialmente organizado. No grupo 2, em 40% dos casos ocorreu a deposição cementária, porém, somente em 1 caso essa barreira de cimento era completa e o ligamento periodontal apresentava-se totalmente desorganizado. Além disso, foi observada a presença de microrganismos Gram-positivos entre o MTA e as paredes laterais da perfuração. No grupo 3, em 60% dos casos ocorreu a neoformação cementária que exibiu um aspecto morfológico irregular; no ligamento periodontal foi observado um infiltrado inflamatório crônico de grande extensão; por fim, não foi encontrado nenhum tipo de microrganismos.

2.2 Materiais

2.2.1 Óxido de Zinco e Eugenol (OZE)

A revisão de literatura a seguir mostra que o cimento de óxido de zinco e eugenol, desde o seu surgimento por Grossman em 1936, é amplamente utilizado na Odontologia seja, além de material selador em perfurações, como material restaurador provisório, capeador pulpar, retrobturador ou como cimento obturador de canais radiculares, apesar de sua pobre bicompatibilidade.

Grossman³⁹ apresentou modificações no cimento de óxido de zinco e eugenol para ser utilizado como cimento obturador de canais radiculares. Este cimento era composto por óxido de zinco, resina, carbonato de bismuto e sulfato de bário no pó e eugenol e óleo de amêndoa no líquido. Segundo o autor, o acréscimo destas substâncias ao cimento de óxido de zinco e eugenol proporcionaria um tempo de trabalho de 20 minutos, facilidade de manuseio, sendo solúvel em clorofórmio, xilol e éter e, aparentemente, não seria irritante aos tecidos periapicais mesmo em casos de extravasamento.

Nicholls⁷² descreveu a técnica da obturação retrógrada em dentes com lesão periapical onde o tratamento endodôntico convencional estivesse impossibilitado como por exemplo, por uma restauração coronária satisfatória, por calcificação da cavidade pulpar ou por uma fratura de instrumento no terço apical do canal radicular. Nesse estudo, o autor sugeriu como materiais retrobturadores o amálgama, o cimento de fosfato de zinco e o cimento de óxido de zinco e eugenol que foi o material de sua preferência por ser fácil de manipular e inserir na cavidade, possuir tempo de trabalho adequado e por ter apresentado resultados satisfatórios após o tratamento.

Erausquin, Muruzábal³³ analisaram a resposta dos tecidos periapicais de molares inferiores de ratos. Os canais radiculares de 141 dentes foram preenchidos com cimento de óxido de zinco e eugenol. Após

períodos experimentais de 24 horas a 90 dias, os animais foram sacrificados, as mandíbulas removidas e submetidas ao processamento histológico. O cimento de óxido de zinco e eugenol apresentou pobre grau de adesividade a dentina com fissuras entre o material e as paredes do canal radicular. Quando extravasado, este material não foi reabsorvido, provocando reação inflamatória intensa com predomínio de polimorfonucleares leucócitos e macrófagos. Nos períodos experimentais mais longos (90 dias), o cimento encontrava-se revestido por uma cápsula fibrosa. Em nenhum dos períodos experimentais, foram observadas áreas de formação de tecido mineralizado.

Erausquin, Muruzábal³⁴ estudaram a resposta do tecido periapical de dentes de rato obturados com cimentos à base de óxido de zinco e eugenol. Foi utilizado o canal mesial do primeiro molar inferior sendo que em metade dos animais foi realizado um extravasamento intencional do cimento obturador. O sacrifício dos animais ocorreu em um intervalo de 1 a 90 dias. Quando extravasado, os cimentos de óxido de zinco e eugenol testados provocaram reação inflamatória severa com polimorfonucleares leucócitos e células gigantes, além de reabsorção óssea e cementária. No grupo em que não foi realizado o extravasamento, pode ser observado infiltrado inflamatório moderado com mínima injúria aos tecidos periapicais, proporcionando os resultados mais favoráveis.

Sela, Ulmanky⁸⁷ investigaram o efeito do Calxyl, uma pasta de hidróxido de cálcio, e do óxido de zinco e eugenol após pulpotomia em polpas normais e inflamadas nos primeiros molares superiores de ratos. Em um primeiro grupos, foram realizados a pulpotomia e o selamento com Calxyl ou óxido de zinco e eugenol. Em um segundo grupo, após a realização da pulpotomia, a polpa radicular foi deixada exposta ao meio bucal por 48 horas, período necessário, segundo os autores, para a indução da inflamação pulpar e, depois, capeadas com os materiais já descritos. A análise dos cortes histológicos mostrou que o Calxyl foi capaz de estimular a formação

de tecido mineralizado sobre a polpa, mantendo-a sadia. Já com o óxido de zinco e eugenol foi observada inflamação pulpar, com células polimorfonucleares e edema; em alguns casos, houve a formação de granuloma periapical e de abscessos, com reabsorções do osso alveolar e das paredes do canal radicular. No grupo em que foi induzida a inflamação pulpar, o óxido de zinco e eugenol e o Calxyl não apresentaram nenhum efeito benéfico, sendo que em todos os dentes foi observada necrose pulpar.

Harsanyi et al.⁴¹ compararam clínica e radiograficamente a resposta tecidual de um cimento de óxido de zinco e eugenol e alguns compósitos resinosos (Adaptic, Concise e Epoxylite HL-72) em tecido subcutâneo de cães. Os materiais testados foram implantados após incisões cirúrgicas realizadas no dorso dos animais e, após períodos de 1, 3 e 6 semanas, os animais foram sacrificados. Clinicamente, em 24% dos casos o cimento de óxido de zinco e eugenol levou a alterações na pele dos cães (rejeição ou presença de exsudato) o que não ocorreu nos casos em que havia a implantação dos compósitos resinosos. Histologicamente, o cimento de óxido de zinco e eugenol apresentou os resultados menos favoráveis, com extenso infiltrado inflamatório predominantemente de neutrófilos após 1 semana e de células gigantes e macrófagos no período de 6 semanas.

Krakow et al.⁶⁰ testaram a capacidade seladora in vivo do Cavit, Caviton, gutta-percha, cimento de fosfato de zinco e cimento de óxido de zinco e eugenol no selamento coronário de dentes anteriores pacientes submetidos ao tratamento endodôntico. Após a realização do isolamento absoluto e da abertura coronária, os canais radiculares foram instrumentados e obturados. Ao final do tratamento, foi inserido na câmara coronária um cone de papel absorvente esterilizado por 1 minuto que depois foi incubado em meio de cultura. Um segundo cone de papel esterilizado foi colocado na câmara coronária sendo esta selada com os materiais já citados por no mínimo 1 semana. Após esse período, o material selador foi removido e o

cone de papel também foi incubado. Pela contagem do número de microrganismos presente no meio de cultura, os autores concluíram que os resultados mais favoráveis foram encontrados quando o selamento coronário foi feito com o cimento de fosfato de zinco, não sendo encontrada nenhuma bactéria no meio de cultura. Em contrapartida, em 75% dos dentes selados com gutta-percha foi observado o crescimento bacteriano sendo o pior resultado encontrado. Já quando o material utilizado no selamento coronário era o cimento de óxido de zinco e eugenol apenas em 14% dos casos foi observada a presença de microrganismos no meio de cultura.

Hoover et al.⁵¹ analisaram a reação tecidual provocada pelo óxido de zinco e eugenol e pelo óxido de zinco e eugenol acrescido de paraformaldeído 6% quando implantados na mandíbula de cães. Foram confeccionadas três cavidades de aproximadamente 1,5 mm de diâmetro e 1 mm de profundidade na borda inferior de ambos os lados da mandíbula, sendo os cimentos manipulados e inseridos. Em cada um dos lados da mandíbula, uma das cavidades foi preenchida com óxido de zinco e eugenol e a outra com óxido de zinco e eugenol acrescido de paraformaldeído 6%, sendo uma terceira deixada vazia servindo como controle. Após os períodos de 1, 2 e 4 semanas, os animais foram sacrificados e as mandíbulas removidas para a realização do processamento histológico. O óxido de zinco e eugenol provocou reabsorção óssea ao redor das cavidades criadas, sendo observada a trombose dos vasos sanguíneos e ausência de osteócitos nas lacunas. O óxido de zinco e eugenol acrescido de paraformaldeído 6% também produziu áreas de reabsorção óssea após 1 e 2 semanas, porém, em menor extensão em comparação com os grupos anteriores, diminuindo depois de 4 semanas.

Hendry et al.⁴³ compararam o hidróxido de cálcio e o óxido de zinco e eugenol como cimentos obturadores de canais radiculares em 42 dentes de sete cães. Quando os animais completaram seis semanas de

idade, foi realizada a extirpação pulpar e os canais radiculares foram deixados expostos ao meio bucal por 2 semanas para contaminação. Após esse período, os dentes foram radiografados para confirmação da presença de lesão periapical e todos os canais radiculares foram instrumentados e preenchidos com uma pasta de hidróxido de cálcio acrescida de sulfato de bário e paramonoclorofenol canforado ou uma pasta de óxido de zinco e eugenol. As restaurações coronárias foram realizadas com um cimento de óxido de zinco e eugenol. O sacrifício dos animais ocorreu 1 dia, 1, 4 ou 12 semanas depois do tratamento, as mandíbulas foram removidas e submetidas ao processamento histológico. A análise estatística de todas as categorias para comparação (mobilidade dentária, inflamação, reabsorção e formação de tecido mineralizado) indicou que o hidróxido de cálcio proporcionou resultados mais favoráveis em comparação com o óxido de zinco e eugenol, exibindo menor inflamação periapical, menor reabsorção óssea e possibilitando o fechamento do ápice radicular pela formação de tecido mineralizado.

Tobias et al.¹⁰⁰ investigaram in vitro a atividade antimicrobiana de vários materiais dentários dentre eles o cimento de óxido de zinco e eugenol. Os microrganismos *Moraxella spp.*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium spp.*, *Actinomyces viscosus*, *Enterococcus* e *Streptococcus sanguis* foram isolados e incubados em uma placa contendo ágar a 37°C por 24, 48 e 72 horas. Após esses períodos, foi realizada a análise da inibição do crescimento bacteriano pela visualização de um halo ao redor dos materiais em estudo. Os materiais foram inseridos no meio de cultura imediatamente após a espatulação, um dia e sete dias depois de espatulados. A análise dos resultados revelou que o cimento de óxido de zinco e eugenol foi o material mais efetivo dentre os estudados, inibindo todos os microrganismos sendo que os maiores halos de inibição foram observados contra *Moraxella spp.* e os piores resultados encontrados quando o microrganismo em questão era o

Enterococcus. Em relação ao tempo de espatulação e de inserção do material no meio de cultura, os melhores resultados foram observados quando o cimento era espatulado e inserido em ágar imediatamente.

Tagger, Tagger⁹⁷ analisaram a resposta tecidual do AH 26 e do cimento de Grossman em tecido subcutâneo de porquinhos da Índia. Foram implantados 27 tubos de polietileno preenchidos com os materiais de estudo na região dorsal de sete animais. A reação histológica foi avaliada após 2 meses analisando a inflamação e a espessura da cápsula tecidual. O cimento de óxido de zinco e eugenol provocou reação inflamatória severa com grande número de células polimorfonucleares neutrófilos. Segundo os autores, este resultado é consequência da instabilidade do material que desintegra em contato com a umidade do tecido liberando partículas que impedem o processo de reparo.

Blackman et al.¹³ avaliaram a biocompatibilidade de um cimento de ionômero de vidro e de um cimento de óxido de zinco e eugenol inseridos em cavidades na tíbia e no tecido conjuntivo de 30 ratos. Pequenas incisões foram realizadas e o osso da tíbia exposto por dissecação. Utilizando uma fresa cirúrgica em baixa rotação, sob irrigação de solução salina, foram confeccionadas cavidades no osso onde os materiais, depois de manipulados, foram inseridos. Os cimentos foram colocados em tubos de polietileno e inseridos no tecido conjuntivo subcutâneo na região dorsal do mesmo animal. Os períodos experimentais foram de 14, 30 e 80 dias após o tratamento. A análise mostrou que os piores resultados foram encontrados quando o cimento de óxido de zinco e eugenol foi utilizado apresentando reação inflamatória moderada com um grande número de células gigantes e tecido conjuntivo denso. Já com o cimento de ionômero de vidro pôde ser observada, nas cavidades criadas na tíbia, após 30 dias, a formação de tecido ósseo reparando os defeitos cirúrgicos e ao redor dos materiais implantados.

Bondra et al.¹⁵ analisaram comparativamente a infiltração marginal do amálgama e dois cimentos de óxido de zinco e eugenol: IRM e EBA. Nesse estudo, foram utilizados 51 dentes anteriores extraídos que tiveram seus canais radiculares instrumentados e obturados com cones de guta-percha e mantidos à temperatura ambiente com 100% de umidade por 15 dias. Após esse período, os dentes foram seccionados em 3 mm do terço apical e com auxílio de uma fresa tronco-cônica foram confeccionadas cavidades retrógradas de 2 mm de profundidade seladas com os diferentes materiais. Depois da impermeabilização, esses dentes foram inseridos em corante da Índia por 72 horas. A análise dos resultados realizada por um microscópio estereoscópio mostrou que os cimento IRM e EBA tiveram menores índices de infiltração em relação ao amálgama, sendo que a diferença estatística entre os cimentos de óxido de zinco e eugenol não foi significativa.

King et al.⁵⁶ investigaram o selamento apical de vários materiais retrobturadores através da técnica de infiltração de fluído. Cinquenta e cinco dentes anteriores foram instrumentados e obturados com guta-percha. Depois de 24 horas foram confeccionadas cavidades retrógradas de 2 mm de profundidade, após a secção de 3 mm do terço apical, cujo selamento foi realizado com amálgama, amálgama em associação com um verniz cavitário, cimento Super EBA e um cimento de ionômero de vidro. A infiltração marginal foi medida depois de 24 horas, 1, 2 e 3 semanas e 1, 2 e 3 meses utilizando uma técnica de infiltração de fluído. A análise indicou que o cimento de ionômero de vidro produziu um menor índice de infiltração quando comparado com os outros materiais em todos os períodos.

Pitt Ford et al.⁷⁷ examinaram a resposta tecidual de vários materiais à base de óxido de zinco e eugenol como retrobturadores em dentes reimplantados. Trinta e cinco primeiro molares inferiores de 19 macacos foram extraídos que tiveram seus ápices seccionados para a

confeção de cavidades retrógradas de 2 mm de profundidade e 0,8 mm de diâmetro com uma fresa esférica. Os canais radiculares foram contaminados com uma lima contendo saliva antes do selamento com os seguintes materiais: IRM, IRM associado à dentina humana triturada, Super EBA, cimento de óxido de zinco e eugenol, Kalzinol e Cavit. Os molares foram reimplantados por oito semanas sendo , posteriormente, os animais sacrificados, as mandíbulas removidas e submetidas ao processamento histológico. A análise dos cortes histológicos mostrou que o IRM, o Super EBA e o Cavit provocaram reação inflamatória de pequena intensidade. Os piores resultados foram encontrados quando o material selador era o cimento de óxido de zinco e eugenol ou o Kalzinol com reação inflamatória severa e a presença de células gigantes multinucleadas localizadas próximas às cavidades retrógradas.

Hashieh et al.⁴² investigaram a quantidade de eugenol liberada no ápice radicular após a obturação com cimento de óxido de zinco e eugenol. Dez milímetros da porção coronária de incisivos centrais superiores foi removida e os canais radiculares instrumentados com sistema rotatório Profile e irrigação com hipoclorito de sódio. Cinco canais radiculares foram preenchidos com Thermafil e o restante com cimento de óxido de zinco e eugenol e guta-percha pela técnica do cone único, sendo 2 mm apicais de cada dente colocado imediatamente em contato com 1 mL de solução salina contendo penicilina e streptomina. A concentração de eugenol liberada pelo cimento na solução foi medida logo após a inserção na solução e depois de 24 horas e 1 mês de armazenamento à 37°C por um espectrômetro de fluorescência. A análise dos resultados demonstrou que os canais radiculares preenchidos pela técnica do cone único liberaram mais eugenol que àqueles preenchidos com Thermafil no primeiro período experimental; após 1 dia ou 1 mês de armazenamento, não houve diferença. Para ambas as técnicas, a concentração de eugenol diminuiu ao longo do tempo.

Portanto, segundo os autores, esse estudo mostrou que a quantidade de eugenol liberada a partir de um cimento de óxido de zinco e eugenol na região apical é baixa, diminuindo ao longo do tempo.

Sabir et al.⁸⁹ avaliaram a resposta pulpar de dentes de ratos ao capeamento pulpar direto com própolis e óxido de zinco e eugenol. Cavidades classe I foram confeccionadas nos primeiro molares superiores do lado direito de 9 animais. Depois, com o auxílio de uma sonda exploradora, realizou-se a exposição pulpar e, então, foi realizado o capeamento pulpar com óxido de zinco ou própolis. O sacrifício dos animais ocorreu 1, 2 e 4 semanas após o tratamento quando foi realizada a remoção da maxila para a realização do processamento histológico. A análise revelou inflamação moderada da polpa, depois de uma semana, nos dentes em que o capeamento foi realizado com cimento de óxido de zinco e eugenol. Esta resposta inflamatória aumentou nos períodos experimentais de 2 e 4 semanas sendo que também não foi observada a formação de tecido mineralizado. Nos dentes em que o capeamento pulpar foi realizado com própolis, não foram encontrados sinais de inflamação depois de 1 semana, porém, após 2 e 4 semanas foi observada reação inflamatória moderada na polpa coronária de dois animais sendo que no restante foi evidenciada a formação parcial de tecido mineralizado em contato com o material.

De-Deus et al.²⁸ investigaram a capacidade de selamento de quatro cimentos obturadores de canais radiculares em duas espessuras diferentes. Foram utilizados 82 incisivos superiores instrumentados e obturados com Pulp Canal Sealer, EndoRez, Sealapex ou AH Plus. Cada grupo foi dividido em dois sub-grupos de acordo com o diâmetro do cone de guta-percha (1,5 mm e 1 mm) sendo que a quantidade de cimento inserida no canal radicular era pré-determinada em 1,5 cm³. Os dentes foram, então, armazenados à 37°C em um ambiente com 100% de umidade por 14 dias. O ápice radicular foi colocado em um meio de cultura, incubado por 4 dias à

37°C para completa esterilização e, então, na porção coronária foi inserido 20 mL de saliva humana coletada de um voluntário. O aparato foi incubado por 9 semanas à 37°C sendo que a turbidez do meio era checada diariamente. A análise dos resultados mostrou que quanto menor a espessura de cimento maior a infiltração bacteriana, sendo que os piores resultados foram encontrados para o Pulp Canal Sealer; após 9 semanas, 55% dos canais radiculares com espessura de cimento menor apresentaram infiltração bacteriana, enquanto, quando a espessura era maior, a porcentagem de dentes que apresentaram infiltração foi de 100% no mesmo período.

2.2.2 Mineral Trióxido Mineral (MTA)

O MTA surgiu para a Odontologia em 1993, desenvolvido pelo professor Mahmoud Torabinejad na Universidade de Loma Linda, nos Estados Unidos, com o objetivo de selar comunicações entre o dente e a superfície externa⁶².

A revisão de literatura a seguir mostra que o MTA, além de ser considerado material indicado em casos de perfurações, também é indicado como material retrobturador, em casos de reabsorções, pulpotomias e no tratamento de dentes com rizogênese incompleta. Todas essas indicações são possíveis visto ser o MTA um material biocompatível, com pH alcalino em torno de 12,5, boa atividade antimicrobiana, excelente adaptação marginal, baixa solubilidade, baixa infiltração bacteriana, resistência ao deslocamento e baixa citotoxicidade^{29,78,84,94-95,102-107}.

Lee et al.⁶² descreveram a composição do MTA, sendo este composto por silicato tricálcio, aluminato tricálcio, óxido tricálcio e óxido de silicato. Em adição aos trióxidos, existem outros óxidos minerais em menor quantidade que são responsáveis pelas propriedades físicas e químicas do agregado. O pó consiste em finas partículas hidrofílicas que, em contato com

a água, resultam em um gel coloidal, tomando presa e endurecendo em menos de quatro horas. Nesse mesmo estudo, os autores também estudaram a capacidade seladora do MTA como material selador de perfurações radiculares, realizadas em cinquenta molares inferiores extraídos de humanos, em comparação com o IRM e o amálgama. A análise dos resultados mostrou que o MTA apresentava menor infiltração marginal que os demais materiais avaliados.

Torabinejad et al.¹⁰¹ estudaram a capacidade seladora de alguns materiais empregados no preenchimento de cavidades retrógradas. Trinta canais de dentes humanos monorradiculares foram instrumentados, obturados e tiveram seus ápices cortados em 3 mm. Foram confeccionadas cavidades retrógradas na região apical que tiveram o selamento realizado com amálgama, Super EBA ou MTA. Os dentes foram corados com Rodamina B por vinte e quatro horas e depois de lavados, foram seccionados no sentido longitudinal e o grau de infiltração do corante foi analisado e medido com auxílio de um microscópio. A análise estatística mostrou que o MTA apresentava o menor grau de infiltração marginal, em comparação ao amálgama e ao Super EBA.

Torabinejad et al.¹⁰² analisaram a influência da contaminação por sangue na capacidade seladora de quatro materiais retrobturadores. Foram utilizados noventa dentes humanos extraídos que tiveram a porção coronária removida e os canais radiculares instrumentados e obturados. O corte apical foi feito em uma altura de 2,0 a 3,0 mm sendo que 80 dentes foram divididos em quatro grupos distintos, sendo confeccionadas cavidades retrógradas seladas com amálgama, Super EBA, IRM e MTA. Os dez dentes restantes foram utilizados como controle, sendo cinco deles preenchidos com guta-percha e os outros cinco com cera utilidade. Para cada grupo, na metade dos dentes a cavidade foi seca com cone de papel absorvente antes

da colocação do material. A outra metade foi preenchida somente depois da contaminação com sangue. Após a imersão no corante azul de metileno a 1% por 72 horas, os dentes foram lavados e seccionados no sentido longitudinal para avaliação da penetração do corante. Os resultados mostraram que o MTA apresentava a menor infiltração marginal entre os materiais testados, com ou sem a contaminação por sangue.

Torabinejad et al.¹⁰⁵ investigaram o tempo necessário à penetração bacteriana do *Staphylococcus epidermidis* em obturações retrógradas de 3 mm de profundidade, preenchidas com amálgama, Super EBA, IRM e MTA. O período experimental foi de 90 dias. Nesse período, o MTA não apresentou sinais de infiltração do *Staphylococcus epidermidis*, sendo que os demais materiais testados mostraram graus diferentes de infiltração bacteriana em períodos que variaram de 6 a 57 dias.

Torabinejad et al.¹⁰³ investigaram a composição do MTA. Nesse estudo, os autores também avaliaram comparativamente a radiopacidade, a resistência à compressão, o tempo de presa e a solubilidade do MTA, do amálgama, do Super EBA e do IRM. Um espectrômetro de raio-X foi utilizado para avaliar a composição do MTA e seu pH medido através do uso de um pH-metro. Os resultados mostraram que os principais componentes do MTA são os íons cálcio e fósforo. Seu pH inicial foi medido em 10,2, aumentando gradualmente até 12,5 depois de três horas da manipulação. Segundo as normas ISO 6876 a radiopacidade dos materiais foi determinada, sendo esta superior a do Super EBA e IRM. O tempo de presa do amálgama foi menor em relação a todos os demais materiais testados, sendo o do MTA o mais longo (2 h 45 min). A resistência a compressão inicial do MTA foi a menor entre os outros quatro materiais, porém aumentou consideravelmente após 21 dias, atingindo 67 MPa. A solubilidade foi medida nos períodos de 1, 7 e 21 dias após a imersão dos espécimes de cada material em água destilada.

A análise estatística mostrou que o IRM foi o material que apresentou maior solubilidade em comparação aos materiais estudados.

Torabinejad et al.¹⁰⁴ avaliaram a citotoxicidade *in vitro* de quatro materiais utilizados em retrobturações: amálgama, Super EBA, IRM e o MTA. Para isso, esses materiais foram colocados em cultura de fibroblastos de camundongos e avaliados logo em seguida do contato do material com as células e após um período de 24 horas. A análise estatística dos resultados revelou que tanto no início quanto após 24 horas de incubação o MTA foi o material menos tóxico seguido pelo amálgama, Super EBA e IRM.

Torabinejad et al.¹⁰⁶ avaliaram a adaptação marginal do MTA, amálgama, Super EBA e IRM como materiais retrobturadores. Oitenta e oito dentes humanos, monorradiculares foram instrumentados e obturados com guta-percha. Após a obturação das cavidades retrógradas com os materiais já citados, os dentes foram seccionados no sentido longitudinal, sendo feitas réplicas de resina para análise em microscopia eletrônica de varredura. A análise estatística dos dados obtidos pela medição das fendas entre o material obturador e as paredes de dentina, permitiu concluir que o MTA apresentava a melhor adaptação marginal em comparação aos demais materiais estudados.

Torabinejad et al.¹⁰⁷ examinaram a resposta do tecido periapical frente ao preenchimento de cavidades retrógradas com MTA e amálgama. Nesse experimento, foram utilizados o terceiro e quarto pré-molares inferiores de ambos os lados de seis cães. Depois da realização da abertura coronária e da extirpação pulpar, os canais radiculares foram deixados expostos ao meio bucal por 2 semanas para a contaminação bacteriana e, então, selados com Cavit por mais 4 semanas para o desenvolvimento de lesão periapical. Após esse período, realizou-se o tratamento endodôntico e,

depois de 2 semanas, os animais foram submetidos à cirurgia parendodôntica com curetagem da lesão periapical, apicectomia e confecção de uma cavidade retrógrada de 2mm de profundidade seladas com amálgama ou com MTA. O sacrifício dos animais ocorreu nos intervalos de 2 a 5 semanas (três cães) e 10 a 18 semanas (três cães) após a cirurgia. Histologicamente, o grupo selado com MTA apresentou menor grau de inflamação em relação ao grupo do amálgama onde houve infiltrado inflamatório severo. Não foi observada formação de cápsula fibrosa (tecido conjuntivo denso) em contato com o amálgama, fenômeno que ocorreu quando o material em estudo era o MTA. A neoformação cementária só aconteceu na região das cavidades seladas com MTA. Em aproximadamente 50% dos casos, constatou-se a presença de bactérias nos túbulos dentinários quando realizada a coloração de Brown & Brenn, independente do material estudado.

Pitt Ford et al.⁷⁸ avaliaram comparativamente a capacidade do MTA e do hidróxido de cálcio em estimular a formação de barreira de tecido mineralizado em áreas de exposição pulpar em dentes de macacos. Doze incisivos mandibulares tiveram suas polpas expostas com uma fresa esférica nº 1, sendo imediatamente selados com MTA ou hidróxido de cálcio e as restaurações coronárias foram realizadas com amálgama. Os animais foram sacrificados após cinco meses. Em 85% dos dentes capeados com MTA não foi observado processo inflamatório; todos os casos mostraram formação de tecido mineralizado entre a polpa e o material. Por outro lado, o hidróxido de cálcio apresentou inflamação pulpar de pequena intensidade em todos os casos e em dois dentes houve a formação de ponte de dentina. De acordo com estes resultados, os autores concluíram que o MTA pode ser empregado como material capeador pulpar.

Sluyk et al.⁹⁵ realizaram perfurações de furca em 32 molares superiores e inferiores com o auxílio de uma fresa esférica e depois alargada com uma broca Gates-Glidden resultando em uma perfuração de 1,4 mm de diâmetro. Uma matriz Gelfoam foi colocada abaixo da cavidade para simular as condições clínicas. Todas as perfurações foram seladas com MTA e então recobertas com algodão seco ou molhado por 24 e 72 horas. Os dentes foram seccionados no sentido horizontal e colocados em um recipiente de acrílico com um orifício no centro de maneira a coincidir com a região perfurada. Com auxílio do teste de “pushout” foi medida a força necessária para se deslocar o MTA. A análise dos resultados mostrou que após 72 horas o MTA apresentou maior resistência ao deslocamento sendo que a presença da umidade durante a presa do material não alterou esta característica.

Shabahang et al.⁹¹ verificaram a capacidade de alguns materiais de induzir a especificação em casos de rizogênese incompleta. Dentes pré-molares de cães, com seis meses de idade, tiveram suas polpas expostas por um período de 14 dias para indução de lesões periapicais. Posteriormente, os dentes foram selados por mais quatorze dias e finalmente submetidos à instrumentação endodôntica. Durante uma semana, os dentes permaneceram com um curativo de demora à base de hidróxido de cálcio. Após esse período, os canais foram preenchidos com os seguintes materiais: proteína osteogênica + colágeno, pasta de hidróxido de cálcio, MTA e colágeno. Todas as cavidades de acesso foram seladas com MTA. Doze semanas após o tratamento, os animais foram sacrificados. Em 93% dos casos em que os canais radiculares foram preenchidos com MTA ocorreu a especificação enquanto para o hidróxido de cálcio e para a proteína osteogênica o percentual foi de 38,5%.

Holland et al.⁴⁹ avaliaram a reação do tecido conjuntivo ao MTA e ao hidróxido de cálcio. Nesse estudo, foram implantados tubos de dentina contendo MTA e hidróxido de cálcio no tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. Os animais foram sacrificados depois de 7 e 30 dias. Algumas amostras foram preparadas para análise histológica com luz polarizada e através do método de Von Kossa. O restante dos espécimes foi corado com hematoxilina & eosina. Os resultados observados com o MTA e o hidróxido de cálcio foram os mesmos tanto aos 7 quanto aos 30 dias. Foram observados grânulos birrefringentes para a luz polarizada que também eram positivos para Von Kossa próximos aos tubos nos dois períodos experimentais. Aos 7 dias, o tecido conjuntivo apresentava-se com reação inflamatória moderada e algumas células gigantes. Aos 30 dias, foi observada uma área calcificada irregular, rodeada por tecido conjuntivo denso com células gigantes e reação inflamatória crônica.

Duarte et al.²⁹ avaliaram o pH e a liberação de íons cálcio de dois materiais utilizados em obturação retrógrada e no reparo de perfurações. Os materiais ProRoot MTA® e MTA-Angelus® foram manipulados, inseridos em tubos plásticos e imersos em água deionizada. As medidas de pH e a análise da liberação de íons cálcio foram realizadas 3, 24, 72 e 168 horas após a espatulação. A análise dos resultados mostrou pH de 9,52 e 1,66 mg/dL de íons cálcio liberados nas primeiras 3 horas. Já para o ProRoot, o valor encontrado para o pH foi 9,32 enquanto a concentração de íons cálcio liberados foi 1,23 mg/dL. Esses valores foram os maiores decrescendo gradativamente nos períodos experimentais restantes.

Adelin et al.² realizaram um estudo cujo objetivo foi avaliar a presença de tecido mineralizado formado em exposições pulpares de dentes de ratos, tendo com materiais capeadores o MTA e uma proteína óssea morfogenética (BMP-7). Assim, foram realizadas 35 exposições pulpares, com o auxílio de uma fresa nº 1/4, nos primeiros, segundos e terceiros

molares superiores de dez ratos. Em 20 dentes, utilizaram como capeadores pulpaes o MTA ou a BMP-7 (10 cada). Os demais dentes foram utilizados como controles. Todos os dentes onde o capeamento pulpar foi feito com MTA apresentaram a formação de tecido mineralizado uniforme e regular com aspecto semelhante a uma dentina terciária, sendo que 09 das 10 amostras apresentaram células positivas para a sialoproteína dentinária (DSP) que é utilizada como marcador exclusivo para a atividade dos odontoblastos.. Já no grupo da BMP-7, também todos os dentes apresentaram a formação de tecido mineralizado, porém, em somente um deles havia uma ponte de dentina completa, além disso, 07 das 10 amostras não foram positivas a marcação para a DSP.

Salako et al.⁸³ estudaram o potencial dentinogênico do vidro bioativo (BAG – bioactive glass) em exposições pulpaes realizadas em dentes de ratos, comparando-o com o sulfato férrico, o formocresol e o MTA. O sacrifício dos animais ocorreu após duas e quatro semanas. O formocresol apresentou áreas de inflamação severa e fibrose, sendo essa última mais intensa ao final de quatro semanas, com processos de calcificação em algumas amostras. O sulfato férrico apresentou inflamação moderada e amplas áreas de necrose pulpar nos intervalos de duas e quatro semanas. O BAG produziu uma resposta inflamatória moderada em duas semanas, com diminuição desta inflamação após quatro semanas. O MTA apresentou os melhores resultados com a formação de barreira de tecido mineralizado e a manutenção da vitalidade pulpar.

Sipert et al.⁹⁴ determinaram in vitro a atividade antimicrobiana do Fill Canal, Sealapex, MTA, cimento Portland e do Endo Rez com várias espécies de microrganismos pelo método de difusão em agar. Os materiais foram colocados no meio de cultura contendo os seguintes microrganismos: *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus*

aureus, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*. As placas foram mantidas à temperatura ambiente por 2 horas para pré-difusão e então incubadas à 37°C por 24 horas. A análise dos resultados mostrou que somente o Sealapex e o Fill Canal demonstraram atividade antimicrobiana para todos os microrganismos avaliados. Para o MTA e o cimento Portland, somente a *Escherichia coli* não foi inibida, enquanto nenhuma atividade antimicrobiana foi detectada para o EndoRez.

Cintra et al.²⁵ avaliaram e compararam qualitativa e quantitativamente a resposta inflamatória e o potencial de formação óssea após a implantação de tubos de polietileno no alvéolo dentário de ratos preenchidos com MTA e um novo cimento contendo hidróxido de cálcio (MBPc). Para isso, utilizaram 48 ratos divididos em três grupos: grupo 1, controle (tubos de polietileno vazios); grupo 2, MTA; grupo 3, MBPc. Em cada animal foi realizada a extração do incisivo central superior. Depois da hemostasia, os tubos de polietileno foram implantados por completo no alvéolo dentário e o tecido gengival suturado sobre o local da extração. O sacrifício dos animais aconteceu nos intervalos de 07, 15 e 30 dias após a implantação dos tubos. Após uma semana, todos os grupos mostraram inflamação moderada que diminuiu aos 15 dias. No 30º dia, os tecidos demonstraram reação inflamatória moderada e na região entre o túbulo e osso alveolar houve a formação de tecido ósseo. No grupo controle, o alvéolo encontrava-se preenchido por tecido de granulação (07 e 15) e depois por tecido conjuntivo organizado (30 dias), sendo que o osso não estava totalmente reparado. No grupo onde os tubos de polietileno foram preenchidos com MTA, aos 07 dias, foi observada uma fina camada superficial e irregular, com necrose de coagulação em contato com o material e que nos períodos seguintes apresentou áreas basofílicas que, segundo os autores, provavelmente serviria de matriz para a mineralização. O grupo 3

apresentou resultados semelhantes ao grupo do MTA, com neoformação óssea próxima ao material no período de 30 dias.

Kogan et al.⁵⁷ testaram a influência de vários tipos de aditivos ao MTA no tempo de presa deste material. Os aditivos utilizados foram solução salina, lidocaína 2%, gel de hipoclorito de sódio 3%, gel de clorexidina, K-Y gel e cloreto de cálcio 3% e 5%. Um grama de MTA foi misturado a 0,35 mL de cada aditivo, sendo confeccionados 3 corpos de prova de 10 mm de diâmetro e 2 mm de espessura para cada tipo. Os períodos de avaliação variaram entre 5 minutos e 4 horas. Os melhores resultados foram encontrados quando o MTA foi misturado ao gel de hipoclorito de sódio 3%, ao K-Y gel e ao cloreto de cálcio 5% sendo relatado um tempo de presa de 20 a 25 minutos. Ainda, segundo o autor, a combinação do MTA e do gel de NaOCl 3% mostrou ser mais fácil de manipulação com características semelhantes as do IRM.

Bortoluzzi et al.¹⁷ avaliaram a influência do cloreto de cálcio 10% na capacidade seladora do ProRoot MTA, do MTA-Angelus e do cimento Portland. Foram utilizados 70 dentes unirradiculares extraídos que tiveram seus canais radiculares instrumentados e obturados. Após a secção de 2 mm a partir do ápice, foram confeccionadas cavidades retrógradas que, posteriormente, foram preenchidas com os três cimentos de MTA acrescidos ou não do cloreto de cálcio 10%. Os dentes foram mantidos imersos por 72 horas em solução de Rodamina B 0,2%. A adição do cloreto de cálcio 10% ao MTA diminuiu, significativamente, os índices de infiltração marginal nos três grupos experimentais quando comparados aos cimentos sem o aditivo.

Bortoluzzi et al.¹⁶ avaliaram a influência da adição de cloreto de cálcio (CaCl_2) 10% no pH e na liberação de íons cálcio nos seguintes materiais: ProRoot MTA, MTA Branco e cimento Portland. Os materiais foram manipulados, inseridos em tubos de polietileno e imersos em 10 mL de água deionizada. As análises foram realizadas logo após a manipulação e depois

de 30 minutos, 60 minutos e 24 horas. A comparação entre os materiais puros e àqueles com CaCl_2 indicou que a presença deste aditivo aumentou imediatamente o pH, porém, os resultados foram similares nos demais períodos. Além disso, os materiais com CaCl_2 liberaram mais íons cálcio após 24 horas. Ainda, segundo os autores, os materiais misturados com CaCl_2 tornaram-se mais fáceis de serem manipulados.

Holland et al.⁴⁶ investigaram a influência do tipo de veículo (água destilada ou propilenoglicol) na resposta do tecido apical de dentes de cães após o preenchimento do canal radicular com MTA. Foram utilizados 40 canais radiculares de incisivos e pré-molares de dois cães. Após a pulpectomia, os canais radiculares foram instrumentados, sendo realizado o arrombamento foraminal com uma lima K #25. Foram, então, estabelecidos 4 grupos experimentais: 1, preenchimento com MTA + água destilada; 2, preenchimento e extravasamento com MTA + água destilada; 3, preenchimento com MTA + propilenoglicol; 4, preenchimento e extravasamento com MTA + propilenoglicol. Os animais foram sacrificados 90 dias após o tratamento e as maxilas removidas para o processamento histológico. Os resultados mostraram que as pastas de MTA preparadas tanto com água destilada quanto com propilenoglicol apresentaram comportamentos semelhantes, sendo observado a formação de tecido mineralizado entre o material e o periodonto, além da presença de infiltrado inflamatório com predomínio de linfócitos e plasmócitos; nos grupos em que foi realizado o extravasamento destas pastas para a região do periápice, somente em 30% dos casos houve a formação de tecido mineralizado, além disso, observaram a presença de infiltrado inflamatório crônico, de macrófagos e células gigantes. Ainda, segundo os autores, a combinação do MTA ao propilenoglicol tornou o manuseio do material mais fácil.

Bortoluzzi et al.¹⁸ avaliaram a resposta do tecido pulpar de dentes de cães ao MTA com ou sem cloreto de cálcio 10%. Com o auxílio de

uma fresa esférica e de uma cureta cirúrgica, após a abertura coronária, foi removida a porção coronária da polpa de 24 dentes de 8 cães. Após a pulpotomia, o capeamento pulpar foi realizado com o cimento de MTA acrescido ou não de cloreto de cálcio 10%. A restauração da cavidade de acesso foi realizada com amálgama. Após 90 dias, os animais foram sacrificados e as mandíbulas removidas e submetidas ao processamento histológico. Os dois grupos apresentaram resultados semelhantes podendo ser observado a formação de uma barreira de tecido mineralizado contínua, com deposição de dentina em contato com as paredes do canal radicular; o tecido pulpar apresentou-se bem organizado e infiltrado inflamatório moderado.

2.2.3 Endo-C.P.M.-Sealer®

O Endo-C.P.M.-Sealer® é um cimento endodôntico á base de MTA que possui alguns outros componentes em sua fórmula responsáveis pela melhora das propriedades físicas e químicas³². Esse cimento foi desenvolvido com o objetivo de, em associação com guta-percha, ser utilizado na obturação de canais radiculares. Como é um material recentemente lançado no mercado, são escassos os trabalhos encontrados na literatura. Sendo assim, serão também abordados nesta revisão da literatura os diferentes tipos de materiais que vêm sendo sugeridos na adição ao MTA para melhora de suas propriedades.

Segundo o fabricante, este cimento possui baixa contração de presa, baixa solubilidade, grande adaptação e aderência à dentina, capacidade osteocondutora, é biocompatível aos tecidos periapicais, possui pH adequado, sua presa não é interferida pela presença de umidade e, se necessário, é um material fácil de ser retirado do canal radicular. Ainda segundo o fabricante, o Endo-C.P.M.-Sealer® é indicado no preenchimento de perfurações radiculares e de furca por possuir ação indutora na formação do cimento³².

Ferreira et al.³⁷ avaliaram comparativamente a composição do MTA-Angelus, Endo-C.P.M. e Endo-C.P.M.-Sealer. Amostras de 1,0 g de cada material foram analisadas por espectrometria de fluorescência de raios-X e por difratometria de raios-X. A análise experimental demonstrou predominância para todas as amostras dos seguintes elementos: óxido de bismuto, óxido de alumínio, óxido de silício, exceto o Endo-C.P.M.-Sealer que apresentou também em sua composição quantidade significativa de sulfato de bário, sendo os principais compostos químicos dos três cimentos o silicato tricálcio, silicato bicálcio e silicato de cálcio e alumínio.

PROPOSIÇÃO

3 Proposição

O objetivo desta pesquisa foi verificar as respostas biológicas, promovidas por materiais à base de mineral trióxido agregado (MTA), em comparação com o cimento de óxido de zinco e eugenol (OZE), no periodonto subjacente às regiões de furca perfuradas em molares de ratos. Assim, a resposta tecidual foi avaliada com base nos seguintes parâmetros: espessura do ligamento periodontal, número de células inflamatórias e número de osteoclastos na superfície do osso alveolar.

MATERIAL E MÉTODO

4 Material e Método

4.1 Animais

Nesse estudo, foram utilizados 60 ratos, de linhagem Holtzman, adultos jovens, pesando em média 200g (aproximadamente 75 dias), provenientes do Biotério Central do Campus de Araraquara (UNESP). Os animais foram mantidos no Biotério da Faculdade de Odontologia (UNESP-Araraquara) em gaiolas plásticas forradas com maravalha, a temperatura de aproximadamente 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Os animais receberam ração (Guabi Nutri Labor, Brasil) e água *ad libitum*. O protocolo de manutenção e tratamento dos animais foi aprovado pelo Comitê de Ética na Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP (Anexo 1).

Foram utilizados os primeiros molares superiores direito e esquerdo de cada animal. O primeiro molar superior do lado direito foi empregado para a realização da perfuração e o primeiro molar superior esquerdo hígido foi utilizado como controle. Os períodos de avaliação foram de 07, 15, 30 e 60 dias após a realização das perfurações. Os materiais utilizados no preenchimento das perfurações, sua composição e procedência estão na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição e procedência dos materiais utilizados no preenchimento das perfurações no assoalho da câmara pulpar

Material	Composição	Indústria
<u>1 - MTA Branco®</u>	(SiO ₂ , K ₂ O, Al ₂ O ₃ , Na ₂ O, Fe ₂ O ₃ , SO ₃ , CaO, Bi ₂ O ₃ , MgO)* e resíduos insolúveis de sílica cristalina, sulfato de potássio e sulfato de sódio	Angelus Indústria de Produtos Odontológicos Ltda., Londrina, PR, Brasil
<u>2 - Endo C.P.M. Sealer®</u>	Mineral Trióxido Agregado, carbonato de cálcio, sulfato de bário, alginato de propilenoglicol, propilenoglicol, citrato de sódio e cloreto de cálcio 10%	Lab. EGEO S.R.L. Bajo licencia MTM Argentina S.A., Buenos Aires, Argentina
<u>3 - Óxido de Zinco e Eugenol</u>	Pó: óxido de zinco Líquido: eugenol	S.S.White Art. Dent. Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brasil

*Anexo 2 – Nomenclaturas Químicas

Os animais foram divididos em grupos MTA (MTA Branco®), CPM (Endo-C.P.M.-Sealer®) e OZE (Óxido de Zinco e Eugenol) de acordo com o material selador e o período experimental. Cada período experimental distinto (07, 15, 30 e 60 dias) constou de 05 animais para cada tipo de material estudado.

4.2 Técnica

Os animais foram anestesiados por injeção intraperitoneal com Xylazina® (Virbac do Brasil Indústria e Comércio Ltda - Brasil) na dosagem de 0,02mL/100g adicionando-se 0,08mL/100g de Ketamina® (União Química Farmacêutica Nacional S/A - Brasil). Uma dosagem suplementar de anestésico foi administrada sempre que necessário.

Os animais foram posicionados em decúbito dorsal sobre uma mesa cirúrgica. Com auxílio de um microscópio estereoscópio (Wild M7, Wild Heerbrugg - Suíça), foi confeccionada, a princípio, uma cavidade classe I na superfície oclusal do primeiro molar superior do lado direito utilizando uma fresa esférica nº ¼ (KG Sorensen Ind. Com. Ltda - Brasil) em baixa rotação. Após a remoção da ponte de esmalte, foi realizada a abertura coronária, removendo todo o teto da câmara pulpar, com movimentos de tração de dentro para fora, expondo toda a câmara coronária. Subseqüentemente, foi realizada a perfuração no centro do assoalho da câmara pulpar, sobre a área de furca, com a fresa posicionada perpendicularmente a superfície oclusal. O diâmetro da perfuração foi àquele correspondente ao da fresa e a profundidade de 2mm, medida a partir da superfície oclusal com o auxílio de um "top" de borracha colocado na fresa. Durante todo esse procedimento, foi feita irrigação abundante com solução salina 0,9% para remoção das raspas de dentina e hemostasia. A secagem da cavidade foi realizada com cones de papel absorvente de diâmetro, previamente esterilizados.

Os materiais à base de MTA foram manipulados de acordo com a recomendação do fabricante, enquanto para o cimento de óxido de zinco e eugenol foi utilizada a proporção de 1,0 g de óxido de zinco para 0,2 mL de eugenol¹¹. O material foi, então, inserido na perfuração, estendendo-se por todo assoalho da câmara pulpar e na

entrada dos canais radiculares, com o auxílio de um cone de papel absorvente estéril 0,15. Com uma sonda exploradora nº 5, removemos os excessos e os dentes receberam o selamento com ionômero de vidro fotopolimerizável (Vitremér® - Dental Produtos 3M - Brasil). Após a polimerização do ionômero de vidro, feita por 40 segundos, os animais foram colocados em gaiolas, devidamente identificados de acordo com o grupo e o período experimental, sendo observados até a recuperação da anestesia. Para maior conforto pós-operatório dos animais, foi administrado ácido acetil-salicílico na dosagem de 120-300mg/Kg por via oral durante três dias (uma vez ao dia).

Decorrido os períodos experimentais, os animais foram sacrificados com uma sobre dose anestésica e os fragmentos das maxilas (esquerda e direita) contendo os molares foram removidos.

4.3 Preparo Histológico

O material foi fixado em formaldeído 4% (preparado a partir do paraformaldeído) em tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 7,2, durante 48 horas. Após a fixação, os fragmentos contendo as maxilas foram descalcificados em EDTA (Ácido Etileno-Diamino-Tetracético) a 7%, tamponado em fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2, durante 60 dias. Os fragmentos da maxila foram desidratados em concentrações crescentes de álcool etílico, a partir do álcool 70ºGL até o álcool absoluto.

Os fragmentos foram então, diafanizados em xilol e, após a infiltração em parafina a 58-60ºC, os fragmentos foram incluídos em parafina para obtenção de cortes sagitais. Os blocos contendo os fragmentos de maxila foram cortados com auxílio de micrótomo (Micron, modelo HM 325). Cortes seriados com 6µm de espessura

foram obtidos da região de furca dos molares contendo as perfurações; de cada fragmento de maxila obteve-se, em média, 100 cortes que foram aderidos a lâminas de vidro e corados com hematoxilina de Carazzi e eosina (H&E), tricrômico de Masson ou submetidos ao método do TRAP (descrito abaixo).

Para a descrição das alterações morfológicas e captura das imagens, foi utilizado o microscópio Olympus (modelo BX-51, Japão) no qual está acoplada uma câmera de captura DP-71 (Olympus).

4.3.1 Método do TRAP

Para identificar os osteoclastos foi utilizado o método do TRAP ("Tartrate Resistant Acid Phosphatase"), um marcador de osteoclastos^{24,67}. A fosfatase ácida está presente em diversas células, entre elas nos macrófagos; no entanto, os osteoclastos caracterizam-se por exibirem uma isoenzima tipo V da fosfatase ácida que é resistente ao tartarato⁶⁵. Dessa maneira, os osteoclastos distinguem-se dos macrófagos pela presença da enzima fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP) no seu citoplasma⁶⁷. Considerando que os osteoclastos apresentam intensa positividade a fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP), esta enzima é considerada um marcador específico dos osteoclastos^{14,24,67,76}.

Os cortes dos fragmentos da maxila foram incubados numa solução de 50ml de tampão acetato de sódio 0,2M, pH 5,0, acrescido de 70mg de "Fast Red Salt TR" (Sigma-Aldrich, Chemical Company, St. Louis, MO) e 8 mg de naftol AS-BI (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO), previamente, dissolvido em 500µl de N-N-dimetilformamida (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO); a esta solução foi adicionado 50mM de tartarato de sódio. Após a incubação, os cortes foram lavados em água destilada, contracorados com

hematoxilina de Carazzi e montados em meio aquoso (glicerina). Como controle de especificidade, alguns cortes foram incubados na ausência do substrato (naftol AS-BI).

4.4 Métodos de análise dos resultados

4.4.1 Análise morfológica

A partir dos cortes corados, foi realizada a descrição das alterações no periodonto subjacente às perfurações no assoalho da câmara pulpar dos molares que foram preenchidas com os diferentes materiais. Nesta análise, considerou-se a presença ou não de processo inflamatório, bem como a sua extensão, e a reabsorção do osso alveolar e do cimento. Além disso, foi verificada a possível formação de tecido mineralizado entre o material selador e o periodonto adjacente.

4.4.2 Análise morfométrica

4.4.2.1 Espessura do Espaço Periodontal

A mensuração do espaço do ligamento periodontal da região de furca dos molares foi realizada a partir dos cortes corados com H&E. Foram quantificados dois cortes por animal, mantendo-se um intervalo mínimo de 100 µm entre os cortes. As imagens dos molares foram capturadas com auxílio de uma câmera (DP-71, Olympus, Japão) acoplado ao microscópio Olympus (modelo BX-51). Com o programa Image-Pro Express 6.0 (Olympus, Japão), foi delimitada e mensurada (em milímetro) uma linha perpendicular às superfícies do osso e do cimento; foram obtidos três valores de medida do ligamento periodontal para cada molar. A partir dos valores obtidos dos dois cortes mensurados, obteve-se a média do espaço do ligamento periodontal para cada animal.

4.4.2.2 Número de Células Inflamatórias

A quantificação de células inflamatórias no ligamento periodontal foi realizada nos grupos MTA, CPM e OZE a partir dos cortes corados com H&E. Foram quantificados três cortes por animal, mantendo-se um intervalo mínimo de 100 μm entre os cortes. Com auxílio de uma câmera (DP-71, Olympus – Japão) acoplada ao microscópio de luz (Olympus, modelo BX-51), em aumento de 20X, imagens do ligamento periodontal subjacente às perfurações foram capturadas. Posteriormente, com um programa de análise de imagens (Image-Pro Express 6.0, Olympus – Japão), foi delimitada, em cada corte, uma área de 0,8 mm^2 no ligamento periodontal subjacente à região de furca perfurada. Nesta área delimitada, foi realizada a contagem de células inflamatórias. O valor total de células inflamatória em cada animal (obtido a partir das áreas dos três cortes) foi dividido pela área total (2,4 mm^2) obtendo-se, assim, um valor de células inflamatórias/ mm^2 . Ao final, foi estabelecida uma média para cada grupo experimental de acordo com o período experimental e o material estudado.

4.4.2.3 Número de Osteoclastos

A quantificação de osteoclastos TRAP-positivos/mm de superfície linear do osso alveolar da região de furca foi realizada nos diferentes grupos. Foram quantificados dois cortes por animal, mantendo-se um intervalo mínimo de 100 μm entre os cortes. Com o auxílio de um sistema de análise de imagens (Image-Pro Express 6.0, Olympus), a superfície óssea do processo alveolar subjacente ao assoalho da câmara pulpar do primeiro molar foi delimitada e mensurada. Posteriormente, foi realizada a contagem dos osteoclastos TRAP-positivos presentes nesta superfície do osso alveolar mensurada. Estabeleceu-se, então, uma razão entre o

número de osteoclastos TRAP-positivos e a superfície óssea mensurada obtendo-se, assim, o número de osteoclastos/mm de superfície óssea. Por fim, foi realizada uma média para cada animal.

4.5 Análise estatística

Os resultados obtidos pela análise morfométrica foram submetidos à análise estatística com o auxílio do programa Sigma Stat 2.0 (Jandel Scientific, Sausalito, CA). Aos dados foi aplicado o teste estatístico paramétrico ANOVA o qual comparou os diferentes grupos entre si dentro de cada período experimental, para posteriormente, quando observada diferença significativa em nível de 5%, fosse realizada a comparação entre os materiais, dois a dois, pelo teste de comparações múltiplas de Tukey. Em alguns casos, quando ocorreu falha da normalidade, foi necessária a utilização do teste estatístico não paramétrico de Kruskal-Wallis para comparação dos materiais entre si. Quando os dados apresentaram diferença significativa em nível de 5%, foi realizada a comparação entre os grupos, dois a dois, pelo teste de Mann-Whitney.

RESULTADO

5 Resultado

A descrição dos resultados dos diferentes materiais nos diferentes períodos experimentais será apresentada de forma individualizada de acordo com o método de avaliação utilizado. Além disso, esta descrição se divide em 2 itens considerando o tipo de análise realizada: 5.1 análise morfológica e 5.2 análise morfométrica.

5.1 Análise Morfológica

5.1.1 Grupo Controle

Os molares hígidos, utilizados como controle, exibiram tecido pulpar íntegro preenchendo a câmara coronária e os canais radiculares. O ligamento periodontal ocupava um estreito espaço entre a superfície externa das raízes e a superfície óssea do processo alveolar (Figura 1A). Na região de furca, uma camada contínua de cimento acelular revestia a superfície da dentina. Feixes de fibras colágenas, interpostos entre as células do ligamento periodontal, freqüentemente, exibiram suas extremidades inseridas nas superfícies do cimento acelular e na superfície do osso alveolar (Figura 1B). Osteoclastos TRAP-positivos, justapostos à superfície do osso alveolar, foram observados entre os inúmeros osteoblastos (Figura 1C).

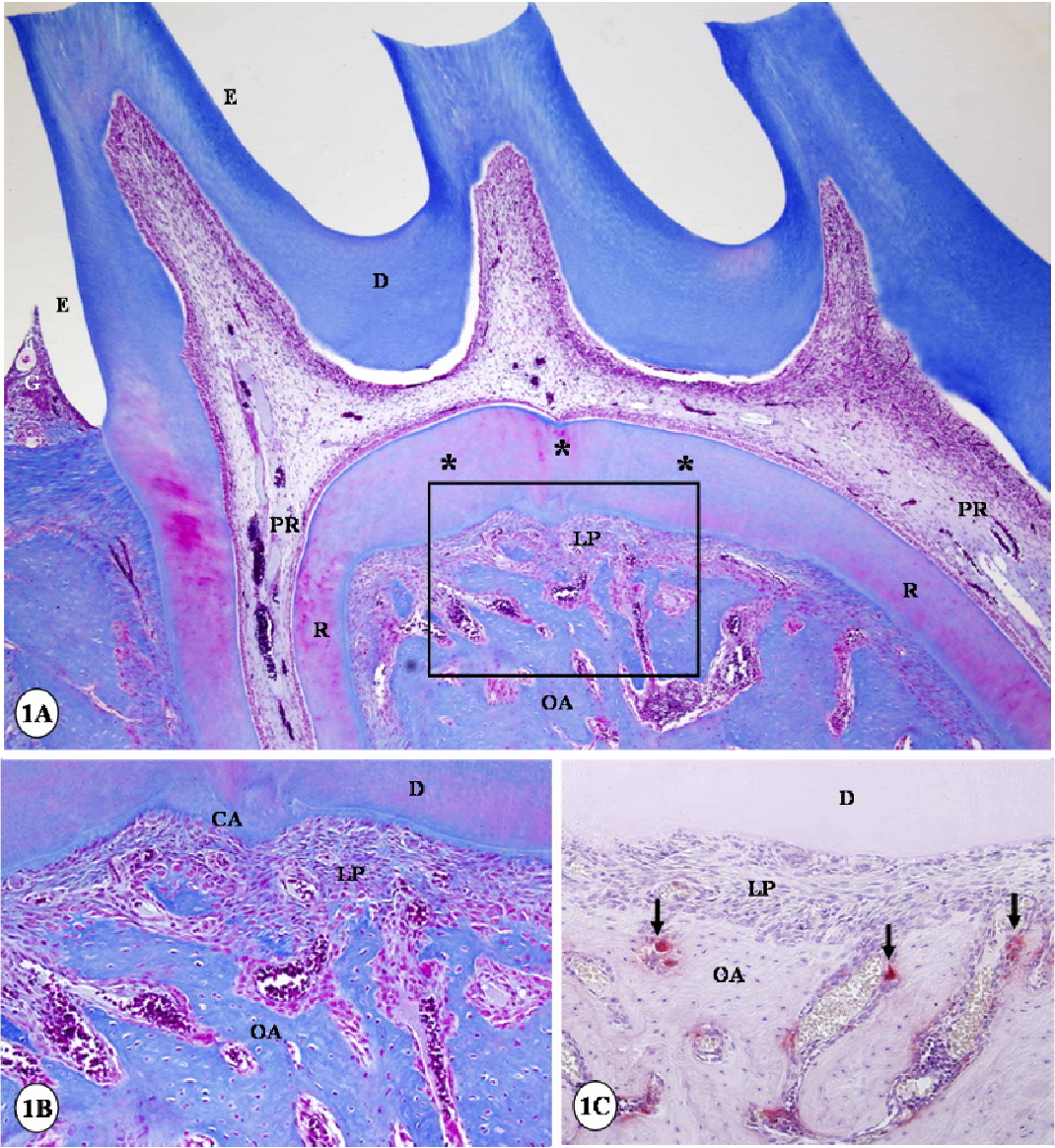


FIGURA 1

Figuras 1A -1C – Fotomicrografias de porções do periodonto de molares de ratos do grupo controle. A **fig. 1A** mostra, em menor aumento, parte do molar superior com os tecidos periodontais. Na região de furca, situada entre as raízes do molar (R), observa-se a dentina do assoalho da câmara pulpar (asteriscos), o ligamento periodontal (LP) e o osso alveolar (OA) que reveste o processo alveolar. E, espaço do esmalte; D, dentina; G, gengiva; PR, polpa radicular. Tricrômico de Masson. 50x. A **fig. 1B**, detalhe de parte da região de furca do molar da fig. 1A, mostra uma faixa de cemento acelular (CA) justaposto à superfície externa da dentina (D). O ligamento periodontal (LP), exibindo inúmeras células, situa-se entre as superfícies radiculares e o osso alveolar (OA). Tricrômico de Masson. 70x. A **fig. 1C** mostra osteoclastos TRAP- positivos (setas), corados em vermelho, na superfície óssea. D, dentina; LP, ligamento periodontal; OA, osso alveolar. Método do TRAP contracorado com hematoxilina. 65x.

5.1.2 Grupo MTA

A análise morfológica revelou que, aos 07 dias, o espaço do ligamento periodontal, adjacente às perfurações do assoalho da câmara pulpar, apresentou-se aparentemente ampliado, em comparação ao observado nos molares hígidos. O ligamento periodontal desorganizado exibiu grande número de células inflamatórias situadas, principalmente, próximas às superfícies radiculares (Figuras 2A e 2B). A superfície irregular do processo alveolar parcialmente reabsorvido exibiu numerosos osteoclastos fortemente TRAP-positivos a fosfatase ácida tartarato resistente (Figuras 2B e 2C). A análise do período de 15 dias revelou resultados semelhantes aos de 07 dias; no entanto, em 02 animais, uma faixa constituída por duas a três camadas de células epiteliais pavimentosas foi observada em contato com o MTA presente na perfuração do assoalho da câmara pulpar (Figuras 2D e 2E). O ligamento periodontal subjacente à camada epitelial, geralmente, exibia fibroblastos entre os feixes de fibras colágenas; alguns destes feixes continham suas extremidades inseridas na superfície do cimento, constituindo típicas fibras de Sharpey (Figura 2D). Os resultados morfológicos revelaram que nos períodos de 30 e 60 dias houve uma aparente diminuição no número de células inflamatórias no ligamento periodontal da região de furca (Figuras 3A e 3D). Em um dos espécimes de 30 dias, foi encontrado um tecido acidófilo com arranjo irregular que preenchia parcialmente a região perfurada no assoalho da câmara pulpar; algumas células aprisionadas no interior de lacunas foram observadas neste tecido (Figuras 3B e 3C). Células mononucleadas, semelhantes a osteoblastos, foram observadas na superfície deste tecido (Figura 3C). No período de 60 dias, o espaço do ligamento periodontal apresentou evidente redução de sua espessura em comparação aos demais períodos analisados (Figura 3D). A redução do espaço do ligamento periodontal foi acompanhada pela aparente diminuição no número de osteoclastos (Figura 3E).

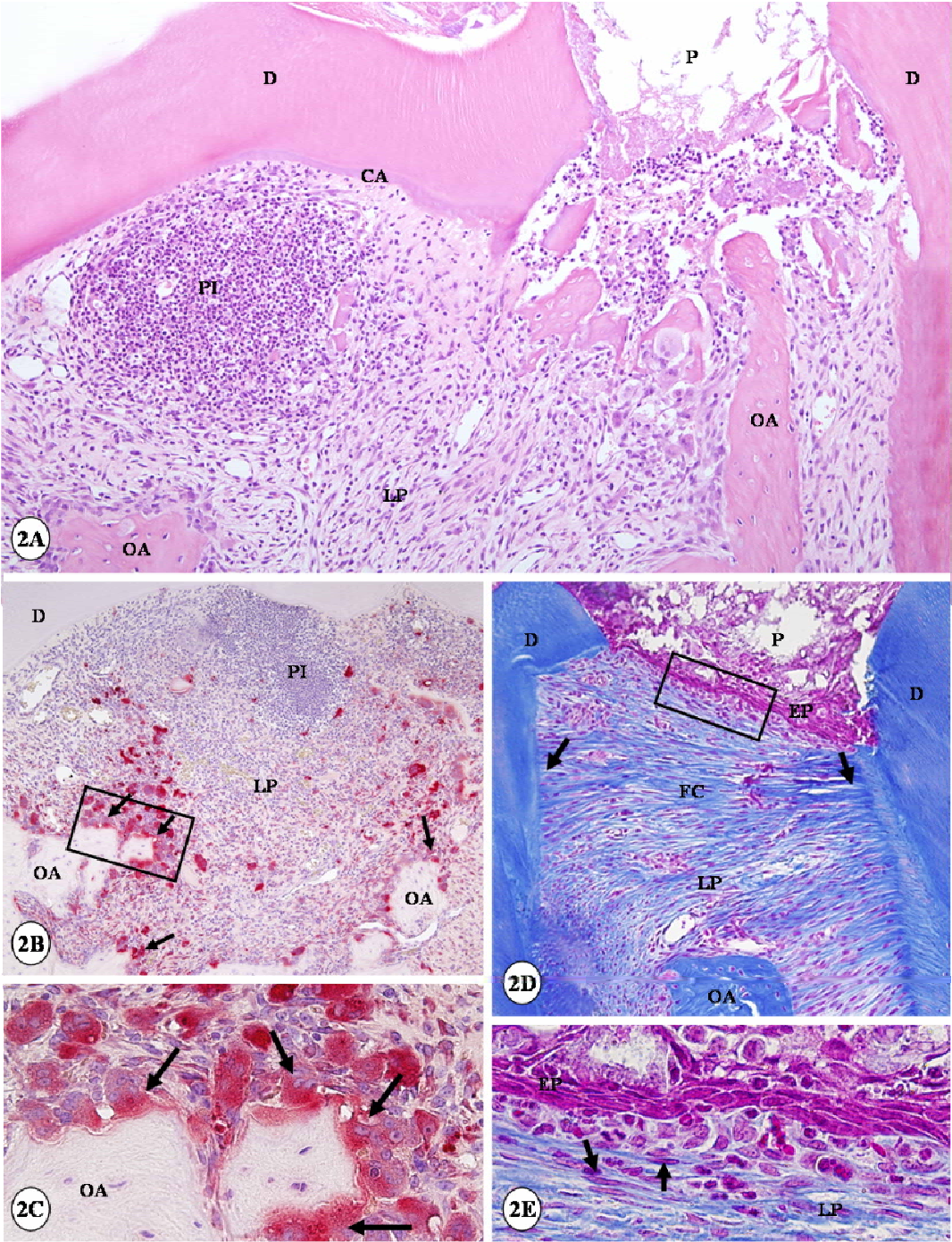


FIGURA 2

Figuras 2A - 2E – Fotomicrografias de porções da região de furca de molares de ratos do grupo MTA 07 dias (Figs 2A – 2C) e 15 dias (Figs 2D – 2E). A **fig. 2A** mostra o amplo espaço do ligamento periodontal (LP), na região de furca, adjacente à dentina do assoalho da câmara pulpar perfurada (P). O tecido conjuntivo do LP exibe numerosas células inflamatórias densamente organizadas, constituindo uma estrutura arredondada e localizada (PI) adjacente à superfície do cimento (CA). D, dentina; OA, osso alveolar. H&E. 130x. A **fig. 2B**, visão geral da região de furca submetida à reação para detecção da fosfatase ácida tartarato resistente (TRAP), mostra diversos osteoclastos positivos (setas), corados em vermelho, adjacentes à superfície do osso alveolar (OA). Numerosas células inflamatórias ocupam, parcialmente, o amplo espaço do ligamento periodontal (LP), formando uma estrutura densa (PI) adjacente à superfície radicular. D, dentina. Método do TRAP contracorado com hematoxilina. 70x. A **fig. 2C**, detalhe da fig. 2B, revela diversos osteoclastos (setas), exibindo positividade ao TRAP (corados em vermelho), justapostos à superfície óssea. OA, osso alveolar. Método do TRAP contracorado com hematoxilina. 195x. Na **fig. 2D**, uma faixa de células epiteliais (EP) interpõe-se entre a perfuração do assoalho da câmara pulpar (P) e o ligamento periodontal (LP). O LP subjacente a esta região exibe típicos feixes de fibras colágenas (FC) que apresentam suas extremidades inseridas nas superfícies das raízes (setas). Tricrômico de Masson. 75x. A **fig. 2E** (detalhe da fig. 2D) mostra que, subjacente à faixa epitelial (EP), formada por 2-3 camadas de células pavimentosas, o tecido conjuntivo do LP exibe típicos fibroblastos (setas). Tricrômico de Masson. 200x.

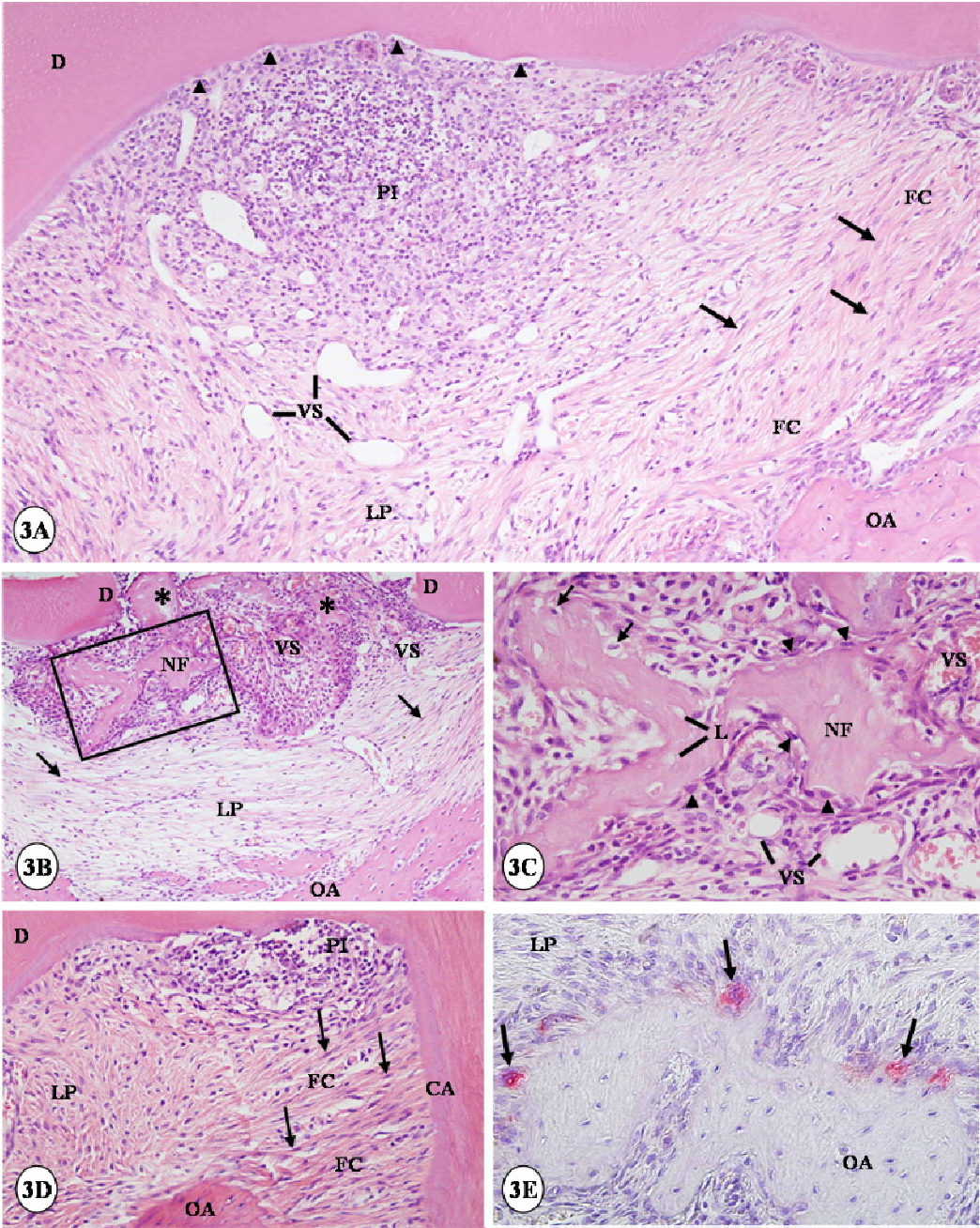


FIGURA 3

Figuras 3A - 3E – Fotomicrografias de porções da região de furca de molares de ratos do grupo MTA 30 dias (Figs 3A - 3C) e 60 dias (Figs 3D - 3E). Na **fig. 3A**, o tecido conjuntivo que preenche o espaço periodontal (LP) exhibe numerosos fibroblastos (setas), fibras colágenas (FC) e diversos vasos sanguíneos (VS); as células inflamatórias (PI) estão restritas a uma pequena porção do LP adjacente à superfície irregular da raiz (cabeças de setas). D, dentina; OA, osso alveolar. H&E. 130x. Na **fig. 3B**, um material acidófilo exibindo formato irregular (NF) está presente no espaço do ligamento periodontal (LP), adjacente à região perfurada da dentina (D); parte deste material (NF) estende-se ao interior da perfuração (asteriscos). Diversos vasos sanguíneos (VS) são observados adjacentes ao material “NF”. Fibras colágenas entre os fibroblastos (setas) do ligamento periodontal (LP) parecem envolver parcialmente a região de perfuração contendo o material “NF”. OA, Osso alveolar. H&E. 60x. A **fig. 3C** mostra, em aumento maior, parte do material “NF” da fig. 3B. O material “NF” acidófilo exhibe aspecto homogêneo e diversas lacunas (L), algumas contendo células no seu interior (setas). Células mononucleadas (cabeças de setas) estão justapostas à superfície do material “NF”. VS, vasos sanguíneos. H&E. 185x. A **fig. 3D** mostra um discreto acúmulo de células inflamatórias (PI), principalmente linfócitos, no ligamento periodontal (LP) adjacente à região de furca do molar. Note que, subjacente a este discreto processo inflamatório, o ligamento periodontal (LP) exhibe fibroblastos (setas) e feixes de fibras colágenas (FC) inseridas no osso alveolar (OA) e no cemento acelular (CA). H&E. 110x A **fig. 3E** mostra poucos osteoclastos TRAP-positivos (setas) justapostos à superfície do osso alveolar (OA) da região de furca. LP, ligamento periodontal. Método do TRAP contracorado com hematoxilina. 165x.

5.1.3 Grupo CPM

A análise dos resultados do grupo CPM, no período de 07 dias, revelou um aumento do espaço do ligamento periodontal com evidente reabsorção do processo alveolar, o qual mostrou diversos osteoclastos adjacentes a sua superfície (Figuras 4A, 4B e 4C). O ligamento periodontal exibiu grande número de células inflamatórias, principalmente, próximas ao CPM (Figuras 4A e 4C). Algumas vezes, porções do material foram encontradas também no ligamento periodontal, ou seja, além da cavidade; este material apresentava-se circundado por células inflamatórias e osteoclastos exibindo conspícua positividade ao método do TRAP (Figura 4C). Odontoclastos TRAP-positivos foram observados em regiões escavadas do cimento acelular; alguns odontoclastos, situados em escavações profundas, estavam em contato com a superfície da dentina (Figura 4D). No período de 15 dias, o espaço do ligamento periodontal permaneceu aparentemente ampliado quando comparado ao controle. No entanto, quando o material foi extravasado para o ligamento periodontal, o mesmo apresentou-se circundado por poucas células inflamatórias (Figura 4E). Aos 30 dias, as células mononucleadas formavam um processo inflamatório bem delimitado que, freqüentemente, estava localizado próximo às superfícies radiculares. Embora o processo alveolar tenha apresentado regiões de profundas escavações, a superfície óssea mostrou-se revestida, na sua maior parte, por osteoblastos (Figura 5A). No período de 60 dias, o espaço do ligamento periodontal reduziu em comparação aos períodos experimentais iniciais. No ligamento periodontal, adjacente à região de furca, foi verificada uma proliferação epitelial em íntimo contato com a superfície radicular (Figura 5B).

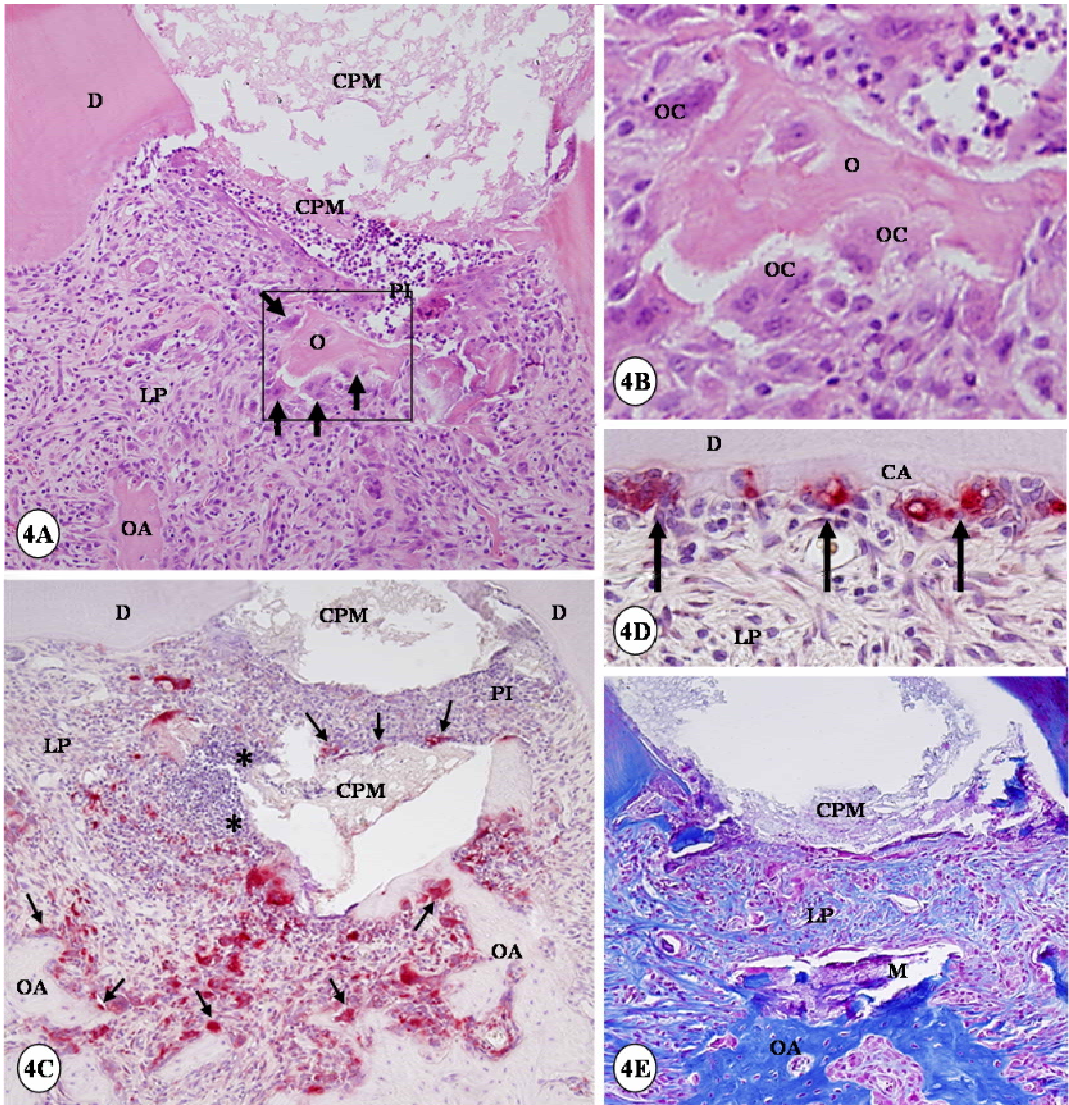


FIGURA 4

Figuras 4A - 4E – Fotomicrografias de porções da região de furca de molares de ratos do grupo CPM 07 dias (Figs 4A – 4D) e 15 dias (Fig. 4E). A **fig. 4A** mostra células inflamatórias (PI) em íntimo contato com o CPM que preenche parcialmente a perfuração do assoalho da câmara pulpar. No ligamento periodontal (LP), subjacente às células inflamatórias (PI), um fragmento de osso (O) apresenta-se envolvido por diversos osteoclastos (setas). OA, osso alveolar. H&E. 85x. A **fig. 4B**, mostra, em maior aumento, osteoclastos multinucleados (OC) justapostos à superfície do fragmento ósseo (O) da fig. 4A. H&E. 200x. A **fig. 4C** mostra parte da perfuração no assoalho da câmara pulpar contendo o CPM. O ligamento periodontal (LP), subjacente ao “CPM”, exhibe numerosas células inflamatórias (PI). O CPM extravasado no ligamento periodontal (LP) está envolvido por células inflamatórias mononucleadas (asteriscos) e algumas células TRAP-positivas (setas). O processo alveolar (OA) exhibe superfície irregular contendo diversos osteoclastos TRAP-positivos (setas). Método do TRAP contracorado com hematoxilina. 95x. A **fig. 4D** mostra odontoclastos positivos ao TRAP (setas) na superfície irregular do cimento acelular (CA) da região de furca. Note que, em algumas localidades, a superfície da dentina (D) apresenta-se sem o revestimento do cimento. LP, ligamento periodontal. Método do TRAP contracorado com hematoxilina. 160x. A **fig. 4E** mostra o CPM preenchendo parcialmente a perfuração no assoalho da câmara pulpar; o tecido do ligamento periodontal (LP) está em íntimo contato com o CPM. Note a presença de material extravasado (M) no LP em íntimo contato com o osso do processo alveolar (OA). Tricrômico de Masson. 100x.

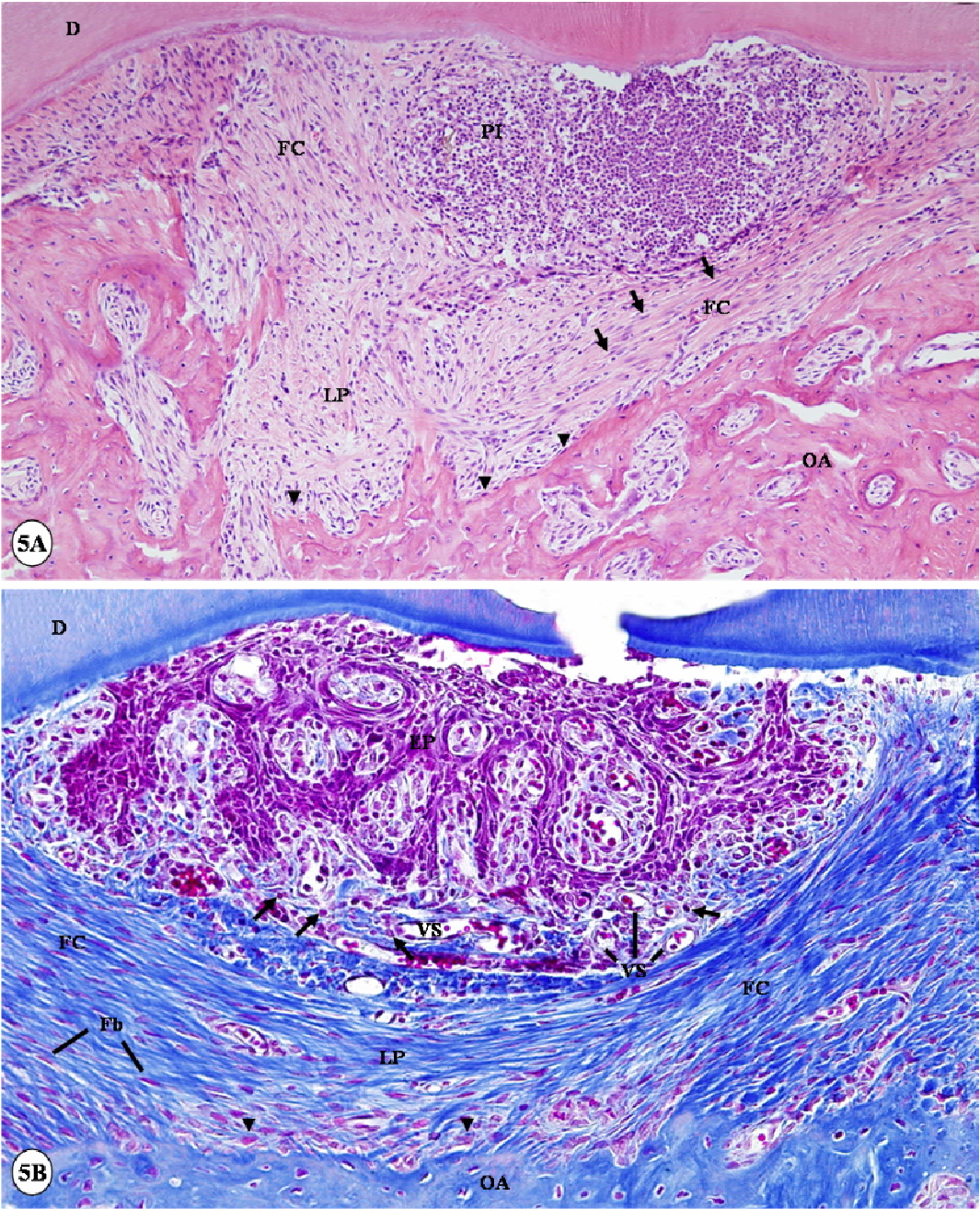


FIGURA 5

Figuras 5A - 5B – Fotomicrografias de porções da região de furca de molares de ratos do grupo CPM 30 dias (Fig. 5A) e 60 dias (Fig. 5B). Na **fig. 5A**, numerosas células inflamatórias (PI) estão densamente arranjadas no ligamento periodontal (LP) adjacente à superfície da raiz. O tecido conjuntivo adjacente ao PI exhibe fibroblastos típicos (setas) entre os feixes de fibras colágenas (FC). Note que a superfície óssea do processo alveolar (OA) apresenta-se revestida por osteoblastos (cabeças de setas). H&E. 130x. **Fig. 5B** mostra tecido epitelial (EP) com arranjo irregular formando uma trama interconectada que apresenta íntimo contato com a superfície radicular, na região de furca. O tecido conjuntivo próximo ao epitélio exhibe algumas células inflamatórias (setas), principalmente linfócitos, entre os diversos vasos sanguíneos (VS). O tecido do ligamento periodontal (LP) mais distante apresenta fibroblastos (Fb) entre feixes de fibras colágenas (FC). A superfície óssea do processo alveolar (OA) apresenta-se revestida por osteoblastos (cabeças de setas). Tricrômico de Masson. 140x.

5.1.4 Grupo OZE

No período de 07 dias, o espaço do ligamento periodontal da região de furca apresentou um evidente aumento, em relação ao grupo controle. Além disso, inúmeras células inflamatórias, densamente agregadas, ocupavam quase toda a extensão do ligamento periodontal (Figura 6A). Ocasionalmente, uma camada de 2-3 células epiteliais pavimentosas delimitava parcialmente o processo inflamatório (Figura 6B). Numerosos osteoclastos TRAP-positivos foram observados justapostos à superfície extensamente escavada do processo alveolar (Figura 6C). No período de 15 dias, foi observado intenso número de células inflamatórias próximas à superfície da raiz; em alguns casos, o processo inflamatório apresentou-se revestido por camadas de células epiteliais (Figura 6D). Nos períodos de 30 e 60 dias, foi observada uma aparente redução no número de células inflamatórias, resultando em um processo mais restrito, em comparação aos períodos iniciais. Diversos osteoclastos foram ainda observados na superfície óssea; além disso, odontoclastos, situados em áreas escavadas na superfície do cimento, foram também observados (Figuras 7A e 7B).

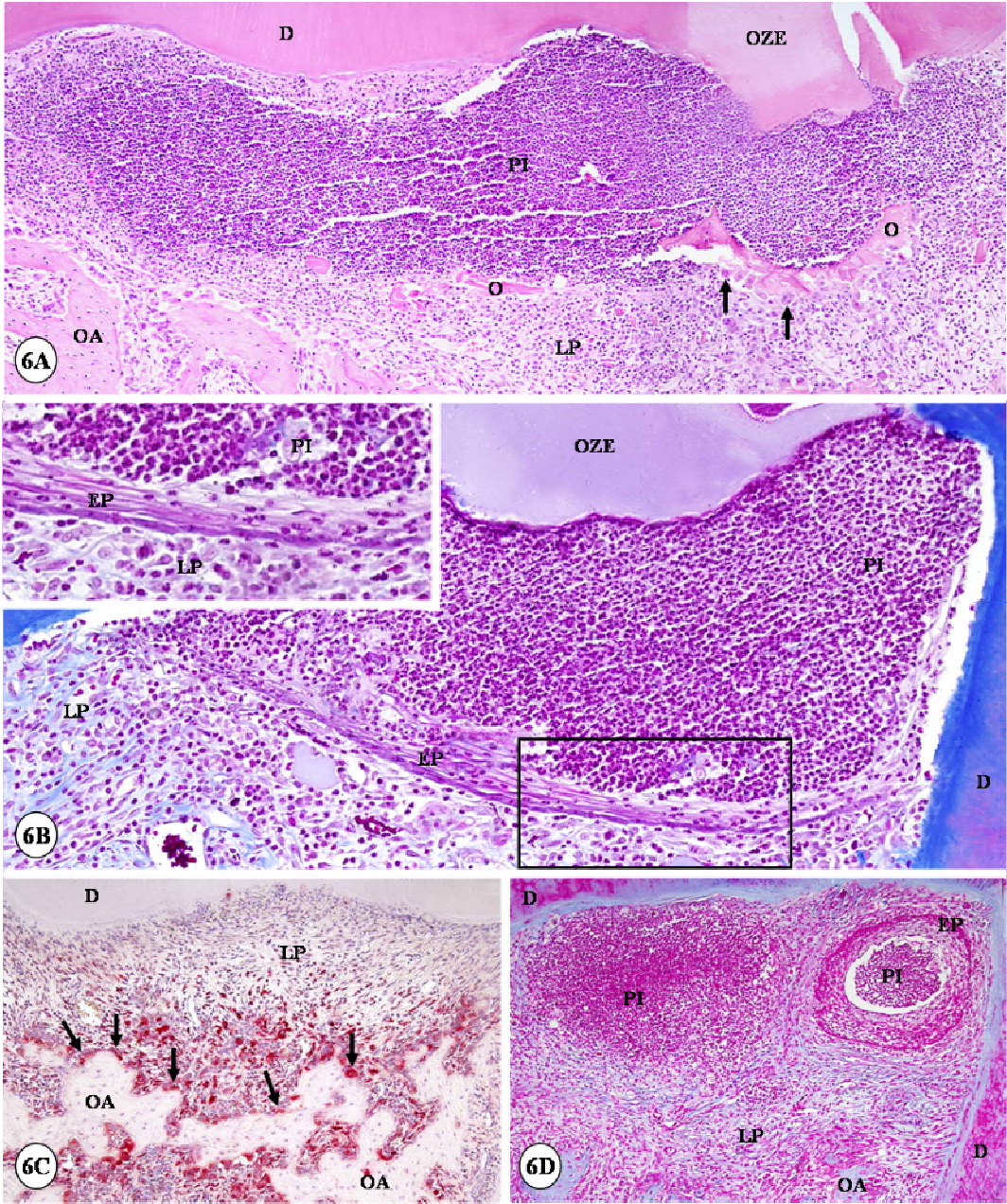


FIGURA 6

Figuras 6A - 6D – Fotomicrografias de porções da região de furca de molares de ratos do grupo OZE 07 dias (Figs 6A – 6C) e 15 dias (Fig. 6D). A **fig. 6A** mostra inúmeras células inflamatórias (PI), densamente agregadas, por toda a extensão do ligamento periodontal (LP) adjacente à superfície radicular, na região de furca. O processo alveolar está restrito a espículas ósseas delgadas (O) envolvidas por células inflamatórias e osteoclastos (setas). Parte da cavidade no assoalho da câmara pulpar apresenta-se preenchida com OZE. D, dentina; OA, osso alveolar. H&E. 135x. A **fig. 6B** mostra inúmeras células inflamatórias (PI), principalmente neutrófilos, em íntimo contato com o cimento OZE usado no preenchimento da perfuração do assoalho da câmara pulpar. Observe que este tecido rico em células inflamatórias (PI) está delimitado por duas a três camadas de células epiteliais (EP). D, dentina; LP, ligamento periodontal. Tricrômico de Masson. 145x; 200x (inset). **Fig. 6C** mostra inúmeros osteoclastos TRAP-positivos (setas), corados em vermelho, justapostos à superfície óssea irregular do processo alveolar (OA). D, dentina do assoalho da câmara pulpar; LP, ligamento periodontal. Método do TRAP contracorado com hematoxilina. 75x. **Fig. 6D** mostra intenso concentrado de células inflamatórias, formando estruturas arredondadas (PI) próximas à superfície da raiz, na região de furca. Uma destas estruturas apresenta-se revestida por camadas de células epiteliais (EP). LP, ligamento periodontal; OA, osso alveolar; D, dentina. Tricrômico de Masson. 65x.

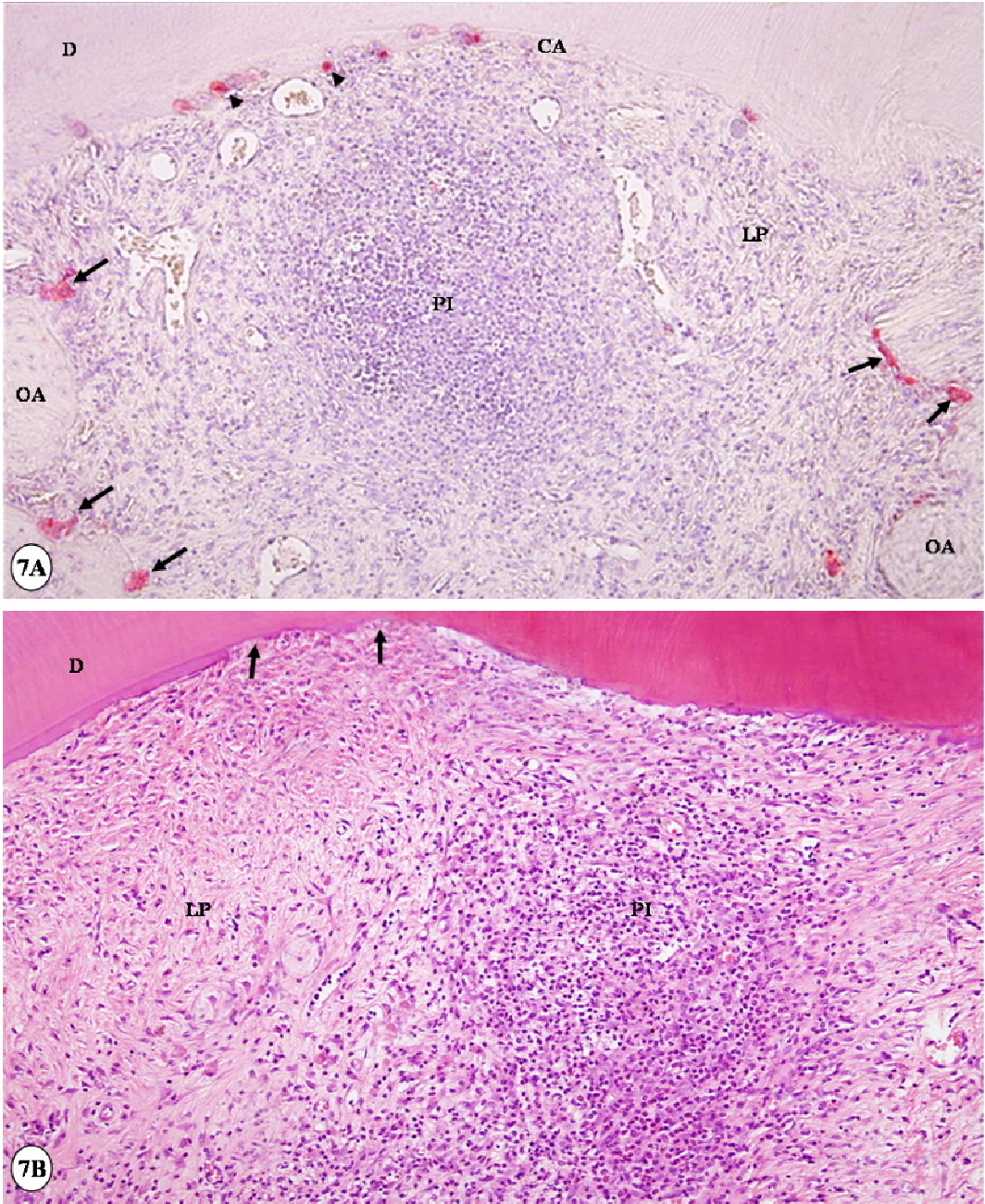


FIGURA 7

Figuras 7A - 7B – Fotomicrografias de porções da região de furca de molares de ratos do grupo OZE 30 dias (Fig. 7A) e 60 dias (Fig. 7B). Na fig. 7A, observa-se, justaposto à superfície irregular do cimento (CA), diversos odontoclastos TRAP-positivos (cabeças de setas). O processo alveolar (OA) mostra-se aparentemente reabsorvido e sua superfície irregular exhibe osteoclastos TRAP-positivos (setas). Uma condensação de células inflamatórias (PI) está presente no ligamento periodontal (LP), adjacente à superfície do cimento (CA). Método do TRAP contracorado com hematoxilina. 130x. **Fig. 7B** mostra diversas células inflamatórias (PI) no espaço do ligamento periodontal (LP), aparentemente, ampliado. Em algumas porções da superfície radicular, a dentina (D) apresenta-se sem o revestimento do cimento (setas), indicando áreas de reabsorção. H&E. 130x.

5.2 Análise Morfométrica

5.2.1 Espessura do Ligamento Periodontal

Os valores obtidos em relação à espessura do espaço do ligamento periodontal (LP), na região de furca, nos diferentes grupos e períodos experimentais, podem ser observados nas Tabelas 2, 3, 4 e 5. O Gráfico 1 ilustra os valores das médias da espessura do espaço do LP para cada grupo nos diferentes períodos experimentais (07, 15, 30 e 60 dias).

A análise dos resultados mostra que houve um aumento significativo do espaço do ligamento periodontal (LP) nos diferentes grupos experimentais, em comparação ao grupo controle, em todos os períodos. O grupo OZE apresentou, em todos os períodos analisados, o espaço do LP significativamente maior em comparação aos grupos MTA e CPM. Embora nos períodos iniciais (07, 15 e 30 dias) o grupo MTA exibisse o espaço do LP significativamente maior em relação aos valores do grupo CPM, aos 60 dias, não houve diferença significativa entre os valores do CPM (0,169mm) e do MTA (0,163mm).

Nos grupos MTA e CPM, o espaço do ligamento periodontal aumentou, gradativamente, a partir dos 07 dias, até o período de 30 dias. No período experimental de 60 dias, a espessura do LP diminuiu em relação aos períodos iniciais.

No grupo OZE, o espaço do LP foi, aproximadamente, seis vezes maior, em relação ao grupo controle aos 07 dias (Tabela 2). Aos 15 dias, houve uma diminuição significativa do espaço do LP em relação ao período inicial. No período de 30 dias, o espaço do LP apresentou espessura semelhante ao período de 15 dias. Aos 60 dias, o espaço periodontal diminuiu significativamente em relação aos períodos de 07, 15 e 30 dias. No entanto, deve-se ressaltar que este valor foi semelhante aos 07 dias no grupo MTA (Compare as Tabelas 2 e 5; Gráfico 1).

Tabela 2 – Espessura do espaço do ligamento periodontal (mm) nos animais dos diferentes grupos no período de 07 dias

Animais	Controle	Materiais		
		MTA	CPM	OZE
1	0,054	0,230	0,179	0,366
2	0,062	0,217	0,168	0,356
3	0,056	0,236	0,183	0,352
4	0,066	0,207	0,189	0,364
5	0,056	0,218	0,185	0,355
Média ± DP	0,059±0,005	0,221±0,011	0,181±0,007	0,359±0,006
DP = desvio padrão		(C<CPM, MTA e OZE)*		(MTA<OZE)*
p≤0,001		(CPM<MTA e OZE)		

Tabela 3 – Espessura do espaço do ligamento periodontal (mm) nos animais dos diferentes grupos no período de 15 dias

Animais	Controle	Materiais		
		MTA	CPM	OZE
1	0,055	0,234	0,183	0,284
2	0,061	0,233	0,182	0,282
3	0,055	0,254	0,180	0,277
4	0,063	0,254	0,179	0,285
5	0,053	0,235	0,185	0,282
Média ± DP	0,060±0,003	0,242±0,010	0,182±0,002	0,282±0,002
DP = desvio padrão		(C<CPM, MTA e OZE)*		(MTA<OZE)*
p≤0,001		(CPM<MTA e OZE)		

Tabela 4 – Espessura do espaço do ligamento periodontal (mm) nos animais dos diferentes grupos no período de 30 dias

Animais	Controle	Materiais		
		MTA	CPM	OZE
1	0,055	0,221	0,200	0,310
2	0,050	0,258	0,198	0,325
3	0,066	0,265	0,193	0,329
4	0,065	0,220	0,199	0,278
5	0,050	0,237	0,171	0,222
Média ± DP	0,057±0,007	0,240±0,020	0,192±0,012	0,293±0,044
DP = desvio padrão		(C<CPM, MTA e OZE)*		(MTA<OZE)*
p≤0,05		(CPM<MTA e OZE)		

Tabela 5 – Espessura do espaço do ligamento periodontal (mm) nos animais dos diferentes grupos no período de 60 dias

Animais	Controle	Materiais		
		MTA	CPM	OZE
1	0,062	0,162	0,166	0,204
2	0,051	0,165	0,173	0,225
3	0,055	0,161	0,171	0,218
4	0,056	0,166	0,170	0,191
5	0,062	0,160	0,164	0,216
Média ± DP	0,057±0,004	0,163±0,002	0,169±0,003	0,211±0,013
DP = desvio padrão		(C<MTA, CPM e OZE)*		(CPM<OZE)*
p≤0,05		(MTA<OZE)		MTA=CPM

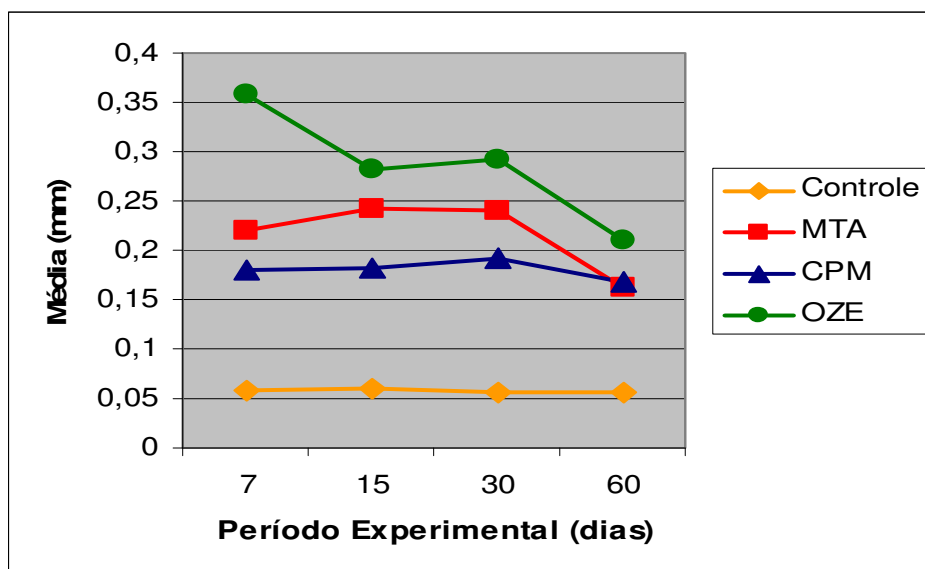


GRÁFICO 1 – Médias (mm) da espessura do espaço periodontal em cada grupo experimental nos diferentes períodos.

5.2.2 Número de Células Inflamatórias

O número de células inflamatórias no ligamento periodontal da região de furca do molar, subjacente ao assoalho da câmara pulpar perfurado, nos diferentes grupos experimentais (MTA, CPM e OZE) e períodos, podem ser observados nas Tabelas 6, 7, 8 e 9. O Gráfico 2 ilustra os valores das médias do número de células inflamatórias/mm² para cada grupo, nos diferentes períodos experimentais (07, 15, 30 e 60 dias).

A análise dos resultados mostra que todos os materiais testados induziram o aparecimento de células inflamatórias no ligamento periodontal, adjacente à perfuração, em todos os períodos experimentais. Nos diferentes grupos, os maiores valores referentes às médias do número de células inflamatórias foram obtidos no período de 07 dias; estes valores diminuíram gradativamente, sendo que, aos 60 dias, houve diminuição significativa. O grupo OZE apresentou, em todos os períodos analisados, o número de células inflamatória/mm² significativamente maior em comparação aos grupos MTA e CPM. Em contrapartida, no grupo CPM, o número de células inflamatórias foi significativamente menor em relação aos grupos OZE e MTA, com exceção do período de 30 dias quando comparado ao MTA.

O número de células inflamatórias diminuiu significativamente em todos os grupos (MTA, CPM e OZE), quando analisados entre os períodos experimentais, ou seja, entre 07 e 15 dias, 15 e 30 dias e entre 30 e 60 dias (Tabelas 6, 7, 8 e 9). Embora no grupo OZE, aos 60 dias, o número de células inflamatórias tenha diminuído significativamente em relação aos períodos iniciais, deve-se ressaltar que este valor foi semelhante ao do grupo CPM no período de 07 dias (Compare as Tabelas 6 e 9; Gráfico 2).

Tabela 6 – Número de células inflamatórias por mm² nos animais dos diferentes grupos aos 07 dias

Animais	Materiais		
	MTA	CPM	OZE
1	130,83	112,08	299,58
2	128,75	113,33	297,50
3	129,16	116,25	289,16
4	129,58	116,25	298,33
5	128,75	116,25	359,90
Média ± D.P.	129,41±0,86	114,83±0,19	308,89±28,80
D.P. = desvio padrão		(CPM<MTA e OZE)*	
p≤0,008		(MTA<OZE)	

Tabela 7 – Número de células inflamatórias por mm² nos animais dos diferentes grupos aos 15 dias

Animais	Materiais		
	MTA	CPM	OZE
1	115,41	104,16	263,33
2	112,50	106,66	267,50
3	116,66	105,83	264,16
4	114,16	104,58	263,75
5	108,75	105,41	266,66
Média ± D.P.	113,49±3,06	105,32±0,99	265,08±1,87
D.P. = desvio padrão		(CPM<MTA e OZE)*	
p≤0,001		(MTA<OZE)	

Tabela 8 – Número de células inflamatórias por mm² nos animais dos diferentes grupos aos 30 dias

Animais	Materiais		
	MTA	CPM	OZE
1	78,75	80,41	234,58
2	81,66	83,75	238,33
3	80,41	87,91	232,08
4	85,00	86,25	232,50
5	91,66	85,83	240,83
Média ± D.P.	83,49±5,10	84,83±0,28	235,66±3,80
D.P. = desvio padrão		(MTA<OZE)*	MTA=CPM
p≤0,001		(CPM<OZE)	

Tabela 9 – Número de células inflamatórias por mm² nos animais dos diferentes grupos aos 60 dias

Animais	Materiais		
	MTA	CPM	OZE
1	73,75	58,75	114,58
2	75,83	62,50	115,83
3	77,50	62,08	116,66
4	77,08	62,50	112,50
5	72,08	62,08	115,41
Média ± D.P.	75,24±2,29	61,58±1,59	114,99±1,58
D.P. = desvio padrão		(CPM<MTA e OZE)*	
p≤0,008		(MTA<OZE)	

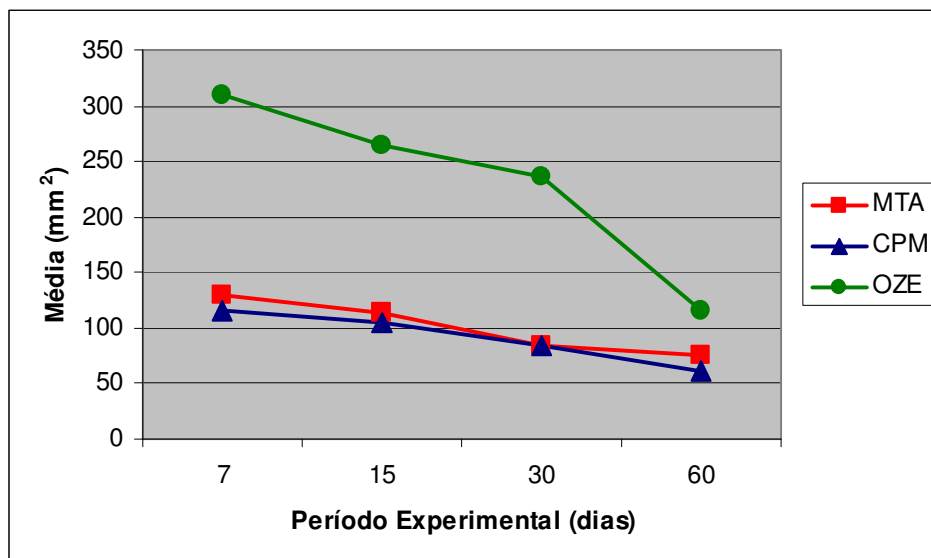


GRÁFICO 2 – Médias do número de células inflamatórias/mm² em cada grupo experimental nos diferentes períodos.

5.2.3 Número de osteoclastos TRAP-positivos

O número de osteoclastos TRAP-positivos/mm de superfície óssea nos grupos controle não apresentou diferença significativa entre os períodos experimentais analisados (Tabelas 10, 11, 12 e 13). No entanto, em todos os grupos experimentais, o número de osteoclastos foi significativamente maior quando comparado aos grupos controle nos períodos de 07, 15 e 30 dias; no período de 60 dias, somente no grupo OZE, o número de osteoclastos foi significativamente maior que no controle. O número de osteoclastos TRAP-positivos, nos grupos MTA e CPM, foi significativamente menor em relação ao grupo OZE, em todos os períodos experimentais. No período de 07 dias, o número de osteoclastos foi significativamente menor no grupo CPM em comparação ao MTA; no entanto, nos demais períodos, não houve diferença significativa entre os dois grupos.

O número de osteoclastos TRAP-positivos/mm de superfície óssea apresentou diferença estatisticamente significante entre todos os grupos, no período de 07 dias (Tabela 10). Nos períodos de 15 e 30 dias, o número de osteoclastos foi significativamente diferente entre os grupos controle e experimentais (MTA, CPM e OZE), bem como entre os grupos MTA versus OZE e CPM versus OZE; a exceção ocorreu quando a comparação foi entre os grupos MTA e CPM (Tabelas 11 e 12). Aos 60 dias, a comparação entre os materiais à base de MTA e o grupo controle não apresentou diferença estatisticamente significativa, assim como, a comparação entre os grupos MTA e CPM. A comparação do OZE com os demais materiais testados e, em relação ao grupo controle, foi diferente estatisticamente (Tabela 13; Gráfico 3).

Tabela 10 – Média do número de osteoclastos/TRAP-positivos por mm de superfície óssea nos animais dos diferentes grupos aos 07 dias

Animais	Controle	Materiais		
		MTA	CPM	OZE
1	1,61	6,10	3,13	12,04
2	1,45	5,09	3,36	12,14
3	1,49	7,11	3,70	12,00
4	1,38	5,01	3,18	13,56
5	1,40	4,78	4,25	13,52
Média ± D.P.	1,46±0,09	5,61±0,97	3,52±0,46	12,65±0,81
D.P. = desvio padrão		(C<CPM, MTA e OZE)*		(MTA<OZE)*
p≤0,001		(CPM<MTA e OZE)		

Tabela 11 – Média do número de osteoclastos/TRAP-positivos por mm de superfície óssea nos animais dos diferentes grupos aos 15 dias

Animais	Controle	Materiais		
		MTA	CPM	OZE
1	1,65	5,60	6,81	10,51
2	1,38	5,58	5,23	10,94
3	1,55	5,51	6,63	11,43
4	1,40	8,76	6,27	10,22
5	1,11	7,78	7,64	10,10
Média±D.P.	1,41±0,20	6,64±1,52	6,51±0,87	10,64±0,54
D.P. = desvio padrão		(C<CPM, MTA e OZE)*		(MTA<OZE)*
p≤0,001		(CPM<OZE)		CPM=MTA

Tabela 12 – Média do número de osteoclastos/TRAP-positivos por mm de superfície óssea nos animais dos diferentes grupos aos 30 dias

Animais	Controle	Materiais		
		MTA	CPM	OZE
1	1,67	5,57	3,89	8,30
2	1,58	6,47	3,84	7,30
3	1,43	5,26	5,51	9,85
4	1,55	5,41	4,13	7,32
5	1,33	5,16	4,49	9,49
Média±D.P.	1,50±0,13	5,57±0,52	4,37±0,25	8,45±1,18
D.P. = desvio padrão		(C<CPM, MTA e OZE)*		(MTA<OZE)*
p≤0,001		(CPM<OZE)		CPM=MTA

Tabela 13 – Média do número de osteoclastos/TRAP-positivos por mm de superfície óssea nos animais dos diferentes grupos aos 60 dias

Animais	Controle	Materiais		
		MTA	CPM	OZE
1	1,47	2,77	1,72	3,55
2	1,29	1,17	1,62	5,50
3	1,50	1,58	1,70	5,00
4	1,45	2,31	2,20	5,90
5	1,33	1,66	1,70	4,86
Média ± D.P.	1,40±0,09	1,89±0,63	1,78±0,23	4,96±0,98
D.P. = desvio padrão		(C<OZE)*		C= CPM e MTA
p≤0,001		(CPM<OZE)		CPM=MTA
		(MTA<OZE)*		

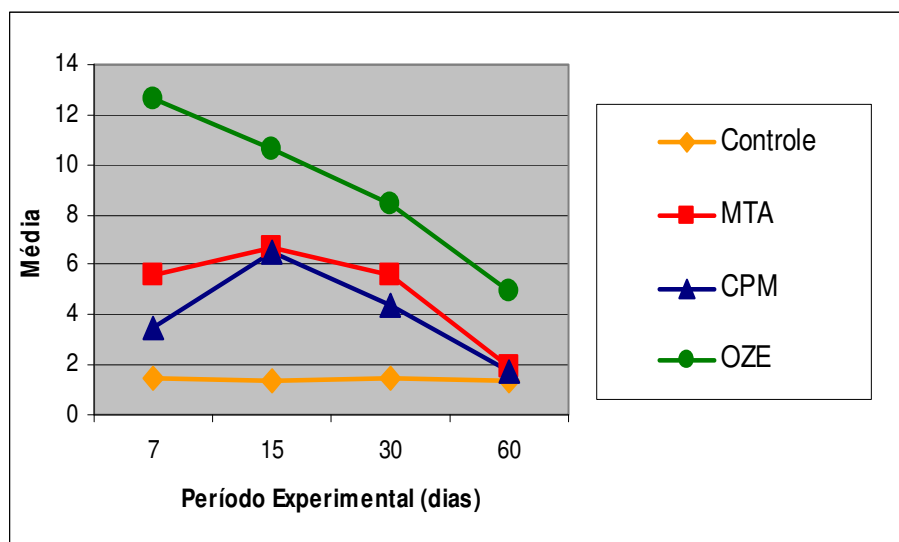


GRÁFICO 3 – Valores das médias referentes ao número de osteoclastos TRAP- positivos/mm de superfície óssea, de cada grupo, nos diferentes períodos experimentais.

DISCUSSÃO

6 Discussão

6.1 Modelo experimental

Vários são os métodos descritos na literatura para a avaliação da biocompatibilidade de materiais utilizados no selamento de perfurações, desde trabalhos *in vitro*, os quais utilizam cultura de células^{98,104,108}, até estudos *in vivo*, alguns realizados em humanos em forma de casos clínicos⁷. Porém, para a reprodução das condições experimentais e avaliação da resposta histológica aos diferentes materiais, é necessário à utilização de animais, já que atualmente, devido aos aspectos éticos, é descartado esse tipo de estudo em humanos.

Rowe⁸¹ discute os aspectos desejáveis envolvidos na seleção de um modelo experimental. Dentre eles, considera que o animal deve ser resistente à infecção e apresentar morfologia dental compatível com a espécie humana; além disso, seu padrão de crescimento também deve ser semelhante, porém rápido o suficiente, para que os resultados sejam obtidos em menor período de tempo.

Vários estudos, realizados em dentes de cães com perfurações de furca, avaliaram a reação histológica do tecido adjacente frente a diferentes materiais seladores^{3,20,73,78,89,113}. No entanto, pelas normas impostas atualmente pelos órgãos de proteção aos animais, a criação de cães tornou-se cara e demorada, sendo que a escolha por modelos experimentais alternativos, utilizando animais de mais fácil obtenção, deve ser uma opção para a continuação desse tipo de análise.

Os ratos têm sido utilizados como modelo experimental para avaliar o comportamento biológico dos materiais endodônticos. A maioria destes estudos avalia a biocompatibilidade de diferentes materiais no tecido subcutâneo^{13,34,49-50,97} e em cavidades realizadas no tecido ósseo,

principalmente da tíbia e da mandíbula^{25,51}. No entanto, escassos são os estudos que avaliaram a reação do periodonto o que pode apresentar resultados mais próximos àqueles que acontecem clinicamente em humanos. Hamamoto et al.⁴⁰ avaliaram a reação histológica dos tecidos periodontais adjacentes a perfurações realizadas no assoalho da câmara pulpar em dentes de ratos. Estas perfurações foram realizadas no primeiro molar superior direito dos animais e mantidas expostas ao meio bucal por diferentes períodos. Esse modelo de estudo foi considerado adequado pelos autores, tendo em vista, que foi possível observar a reação do periodonto adjacente à perfuração.

Assim, no presente estudo, procurando reproduzir as condições clínicas de tratamento, o rato foi selecionado como modelo animal devido a fácil obtenção e manutenção, a viabilidade econômica e serem animais resistentes à infecção. Além disso, estes animais são facilmente anestesiados, são resistentes a períodos prolongados de sedação e apresentam morfologia dental compatível com o humano, além de possibilitar o emprego de uma amostragem maior por grupo experimental.

6.2 Técnica empregada

Os dentes selecionados foram os primeiros molares superiores devido à forma anatômica ser mais ampla em comparação com o segundo e terceiro molares. No entanto, a abertura da câmara pulpar e a perfuração do assoalho pulpar foram extremamente difíceis; as dificuldades na realização das perfurações surgiram, principalmente, devido à limitação da abertura bucal e ao tamanho do primeiro molar. Estas dificuldades foram, parcialmente, minimizadas com o uso do microscópio estereoscópio o qual ampliou o campo operatório possibilitando a realização da abertura coronária e perfuração do assoalho pulpar com maior precisão. O primeiro molar superior esquerdo hígido foi utilizado como controle¹¹³.

Considerando que o tamanho e a extensão da perfuração no assoalho da câmara pulpar são fatores que podem interferir na resposta tecidual e, conseqüentemente, no êxito do tratamento^{93,78}, tentou-se padronizar o diâmetro e profundidade das perfurações realizadas experimentalmente nos molares de ratos. Dessa maneira, foi utilizada uma fresa esférica nº 1/4, em baixa rotação, por ser esta de diâmetro compatível com a morfologia da estrutura dental do rato. Além disso, um “top” de borracha foi colocado a 2mm da extremidade da parte ativa da fresa, tendo-se como referência a superfície oclusal, para controlar a profundidade das perfurações. A profundidade de 2mm estabelecida, partiu de um estudo piloto realizado, onde foi feita a remoção do elemento dental com um instrumento Hollembach nº 5. Com o dente extraído, foi medida a distância entre a superfície oclusal e a superfície radicular da região de furca. A distância estabelecida, então, foi a de 2mm, por ser a distância mínima necessária para a realização da perfuração, evitando que a fresa invadisse o ligamento periodontal promovendo trauma mecânico ao tecido de estudo. Deve-se ressaltar ainda, que a metodologia utilizada nesta pesquisa alcançou o seu objetivo, visto que em todos os espécimes analisados foi constatada a perfuração no assoalho da câmara pulpar. A hemorragia, em conseqüência à exposição pulpar e, subseqüentemente, à perfuração do assoalho pulpar, foi controlada com irrigação constante de solução salina 0,9%; para secar a cavidade, um cone de papel absorvente e estéril foi utilizado³¹.

O selamento com os diferentes materiais e a restauração coronária foram realizados, imediatamente, após a confecção das perfurações. Este procedimento foi adotado considerando que o sucesso do tratamento das perfurações está diretamente relacionado ao selamento imediato das mesmas e à restauração coronária do dente a fim de impedir ou minimizar a contaminação por bactérias^{4,45,78,89,93}. O material utilizado para a

realização da restauração da cavidade de acesso foi o ionômero de vidro fotopolimerizável (Vitremer®). Este material possui boa adesividade à dentina, baixa infiltração marginal de fluidos e bactérias, é resistente a fratura, de fácil inserção e apresenta tempo de trabalho adequado^{110,112}. Além disso, não é necessário realizar a condensação do material na cavidade, impedindo que forças excessivas durante a inserção do ionômero de vidro causem o extravasamento, para a região do ligamento periodontal, dos materiais utilizados no selamento das perfurações.

No presente estudo, os períodos experimentais de avaliação foram de 07, 15, 30 e 60 dias. Estes intervalos estão de acordo com as recomendações da “Federation Dentaire International”³⁶ e da “American National Standards Institute”⁶, as quais incluem a avaliação da reação histológica no período inflamatório (07 dias) e a capacidade de reparação do tecido periodontal nos períodos experimentais mais longos.

6.3 Materiais empregados

O MTA surgiu, inicialmente, com o objetivo de selar as comunicações entre o dente e o periodonto⁶², sendo também considerado, atualmente, o material de escolha em casos de capeamento pulpar, reabsorções e dentes com rizogênese incompleta, devido às boas propriedades físicas, químicas e biológicas deste material. Diferentes estudos têm sugerido que o MTA é biocompatível, por possuir um pH alcalino^{29,84,103}, baixa citotoxicidade¹⁰⁴ e possibilitar a formação de tecido mineralizado^{2,78,79,113}. Além disso, este material possui radiopacidade satisfatória^{99,103}, boa atividade antimicrobiana⁹⁴, adaptação marginal adequada¹⁰⁶⁻¹⁰⁷, baixa solubilidade¹⁰³, baixa infiltração bacteriana¹⁰⁵ e resistência ao deslocamento⁹⁵.

Apesar do MTA apresentar boas características biológicas, este material possui algumas propriedades adversas, como dificuldade de manuseio e inserção na cavidade e o longo tempo de presa²². Com o objetivo de solucionar estes problemas, procurando aliar às boas características biológicas deste material, vem sendo sugerida a adição de alguns produtos ao MTA^{16-18,57}.

O cimento endodôntico Endo-C.P.M.-Sealer® surgiu no mercado com a expectativa de associar as características físicas e químicas de um cimento endodôntico obturador de canais radiculares às propriedades biológicas do MTA sendo indicado, segundo o fabricante, na obturação de canais radiculares e no selamento de perfurações. Além dos componentes do MTA, esse produto apresenta em sua fórmula uma grande quantidade de sulfato de bário^{32,37}, utilizado para aumentar a sua radiopacidade, e cloreto de cálcio³², um acelerador de presa¹ que pode aumentar o pH e a quantidade de cálcio liberado^{16,21} e a capacidade seladora do produto¹⁷, além de facilitar o manuseio do mesmo, porém, sem alterar a biocompatibilidade do produto¹⁸.

Os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol são amplamente utilizados na odontologia, seja como materiais restauradores provisórios, em casos de pulpotomia, como cimentos endodônticos obturadores de canais radiculares, como materiais retrobturadores e no selamento de perfurações. A reação dos diferentes tecidos ao óxido de zinco eugenol têm sido largamente estudada, sendo este produto caracterizado por apresentar baixa biocompatibilidade^{13,20,51,77,82,87}. Assim, a escolha deste material para preencher as perfurações no assoalho pulpar, deve-se à sua ampla utilização na odontologia; além disso, como este material apresenta um comportamento biológico já conhecido, este serviu de parâmetro ao nosso modelo experimental.

6.4 Reação dos materiais no ligamento periodontal

A biocompatibilidade é característica fundamental para um material endodôntico ser indicado no selamento de perfurações, sendo que este deve estimular ou, no mínimo, não interferir, sobre o processo de reparo do periodonto adjacente⁶³. Assim, no presente estudo, para análise do comportamento biológico de três materiais utilizados no selamento de perfurações de furca em molares de ratos, foi avaliada a reação histopatológica sob três parâmetros intimamente relacionados: número de células inflamatórias, espessura do espaço periodontal e número de osteoclastos TRAP-positivos na superfície do processo alveolar inter-radicular, procurando observar a resposta inflamatória e a capacidade de reparação do periodonto.

Os três materiais avaliados induziram intenso processo inflamatório no período de 07 dias. No entanto, o cimento OZE foi o que estimulou a formação de um processo mais intenso, o qual se estendia por todo o espaço do ligamento periodontal subjacente a região de furca. A formação de um processo inflamatório de maior intensidade no período inicial indica que os materiais, à base de MTA, bem como o OZE, promovem resposta inicial irritante aos tecidos periodontais. A instalação do processo inflamatório caracteriza-se pela vasodilatação e pelo aumento da permeabilidade vascular permitindo que, por um processo de quimiotaxia, leucócitos migrem para o tecido lesado⁶¹. Os neutrófilos, cerca de 60% do total dos leucócitos circulantes, constituem a “primeira linha de defesa” contra agentes estranhos ao organismo, sendo as primeiras células recrutadas para o local do trauma^{74,86,96,109}. Diversos estudos têm demonstrado que diferentes materiais promovem o recrutamento, proliferação e diferenciação de células inflamatórias^{12,22,26,30,48,49,50,98,108}. O intenso processo inflamatório observado no grupo OZE, no período inicial, deve estar associado, principalmente, ao eugenol; tem sido demonstrado que o eugenol é um

irritante potente^{9,52,58,69}, liberado de maneira lenta e prolongada^{10,66,68}. O efeito irritante do eugenol parece estar relacionado com sua capacidade de penetração nas células, causando desnaturação protéica, o que leva à perda de função e desintegração celular⁵⁹. Outros autores afirmam que o eugenol pode inibir a respiração celular³⁸, causando a morte da célula⁶⁶. Os íons zinco, presentes na composição do óxido de zinco e eugenol, também parecem ter uma ação secundária na pobre biocompatibilidade deste cimento³⁰. Estes eventos influenciam na reação inflamatória promovendo a quimiotaxia das células de defesa para o tecido lesado^{9,34,38}. Dessa maneira, a quantidade de eugenol parece influenciar diretamente na intensidade da resposta inflamatória⁶⁸. Embora, no presente estudo, tenha sido utilizado o OZE numa consistência densa, com a quantidade de eugenol controlada como preconizado para os casos de retrobturação¹¹, este material promoveu a formação de processo inflamatório contendo, aproximadamente, três vezes mais células inflamatórias que os materiais à base de MTA no período de 07 dias. A presença de processo inflamatório intenso formado em resposta ao OZE tem sido descrita em diferentes modelos experimentais^{9,20,34,38,51,89,82}.

As células inflamatórias produzem e liberam diversos mediadores químicos, que são os moduladores da inflamação, tais como, interleucina 1 (IL-1), IL-6, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e prostaglandinas – PGE2^{61,96}. Estes mediadores estão diretamente relacionados com a proliferação, fusão e diferenciação de osteoclastos a partir de seus precursores situados na medula óssea. Osteoclastos em diferenciação migram para os sítios onde as citocinas estão sendo produzidas e liberadas, aderem-se à superfície óssea e iniciam a reabsorção óssea^{53,70,75}. Dessa maneira, o alto número de células inflamatórias encontradas no ligamento periodontal subjacente ao material OZE, quando comparado ao observado nos grupos MTA e CPM, no período de 07 dias, deve explicar o alto número de osteoclastos TRAP-positivos observados

neste grupo. A frequência de osteoclastos na superfície óssea, no grupo OZE, exibindo conspícua positividade a fosfatase ácida tartarato resistente, indica que estas células promoveram a reabsorção do processo alveolar, explicando o significativo aumento do espaço periodontal, tanto em relação ao grupo controle bem como aos grupos experimentais (MTA e CPM).

Os nossos resultados morfométricos, no grupo OZE, mostraram uma relação direta entre os parâmetros analisados: número de células inflamatórias, número de osteoclastos e espessura do espaço periodontal. Dessa maneira, no período de 15 dias, foi verificado, no grupo OZE, redução no número de células inflamatórias, osteoclastos e, conseqüentemente, do espaço periodontal, embora todos estes parâmetros ainda tenham sido significativamente maiores em relação aos materiais à base de MTA.

Nos grupos MTA e CPM, a incidência de osteoclastos foi acompanhada pelo aumento do espaço periodontal; no entanto, no período de 15 dias, houve uma tendência de redução no número de células inflamatórias que foi confirmada nos períodos de 30 e 60 dias. Estes achados confirmam que os materiais à base de MTA promovem menor irritação aos tecidos em comparação ao óxido de zinco eugenol^{20,43,49-51,78,73,97,113}. A comparação entre os materiais à base de MTA revela que o Endo-C.P.M.-Sealer® promoveu menor infiltrado inflamatório no ligamento periodontal e, conseqüentemente, menor espessamento do espaço do ligamento periodontal, no período de 07 dias. Estes resultados sugerem que o material Endo-C.P.M.-Sealer® promove, pelo menos inicialmente, uma resposta menos agressiva aos tecidos em comparação ao MTA.

Acredita-se que o MTA possua mecanismo de ação semelhante ao do hidróxido de cálcio, material amplamente conhecido por sua biocompatibilidade^{27,47,64,88,114}. Esta hipótese é baseada no fato de que o óxido de cálcio, principal componente do MTA, quando misturado à água, produza hidróxido de cálcio^{22,48,50,85}; acredita-se que o hidróxido de cálcio

seja um dos responsáveis pela irritação inicial provocada pelo MTA nos tecidos^{92,108,111}. No entanto, em contato com os fluídos teciduais, há a dissociação do hidróxido de cálcio em íons hidroxila e cálcio; os íons cálcio podem reagir com o carbonato presente nos tecidos formando grânulos de calcita^{48,50}. A menor irritação aos tecidos, observada no grupo CPM, pode ser explicada, pelo menos em parte, devido à presença de cloreto de cálcio a 10%, um acelerador de presa, em sua composição. Assim, o hidróxido de cálcio formado se dissocia com mais rapidez em íons cálcio e hidroxila, contribuindo para a diminuição da inflamação^{48,50,80,85}. O tempo de presa do MTA é de aproximadamente 3 horas^{21,103}, portanto, durante este período, o hidróxido de cálcio formado deve exercer um papel irritante aos tecidos, promovendo uma necrose superficial nas células em íntimo contato com o MTA^{22,35,48,50,108}. Estudos têm demonstrado que a adição do cloreto de cálcio ao MTA reduz em 50 % o tempo de presa deste material^{21,57} favorecendo a adaptação marginal¹⁷, sem alterar sua biocompatibilidade^{1,18}.

A análise dos resultados mostrou que o MTA promove a desorganização e destruição mais intensa do periodonto que o Endo-C.P.M.-Sealer®, ocasionando maior espessura do ligamento periodontal até o período de 30 dias. No entanto, é importante ressaltar que, no período de 60 dias, os grupos CPM e MTA não apresentaram diferença estatisticamente significativa na espessura do espaço do ligamento periodontal e também no número de osteoclastos TRAP-positivos. Além disso, deve-se ressaltar que, na maioria dos animais, o Endo-C.P.M.-Sealer® foi encontrado no ligamento periodontal, extravasado além da cavidade realizada no assoalho da câmara pulpar; nos períodos iniciais, este material, freqüentemente, mostrou-se circundado por células inflamatórias e células multinucleadas TRAP-positivas. A presença de células inflamatórias circundando o Endo-C.P.M.-Sealer® indica que este material, pelo menos no início, promove uma irritação ao tecido conjuntivo do ligamento periodontal, semelhantemente ao

descrito por outros autores em diferentes modelos experimentais^{25,92,108,111}. Este extravasamento do Endo-C.P.M.-Sealer® para o espaço do ligamento periodontal, deve-se, pelo menos em parte, a sua composição; por ser um cimento obturador de canais radiculares, este material contém o propilenoglicol em substituição à água destilada, tornando-o pastoso, o que facilita sua inserção no canal radicular⁴⁶. No entanto, em casos de perfuração de assoalho da câmara pulpar em molares de ratos, este cimento apresentou maiores dificuldades de manuseio e inserção, quando comparado ao MTA e OZE.

Em todos os grupos experimentais foi observada uma proliferação epitelial para a região de furca, embora com maior ocorrência no grupo OZE. Seltzer et al.⁸⁹ e Bramante, Berbert²⁰ também verificaram a ocorrência de proliferação epitelial em perfurações na região de furca realizadas em dentes de cães as quais foram seladas com OZE. Foi sugerido que a proliferação epitelial na região de furca ocorre devido a citotoxicidade dos materiais utilizados no selamento das perfurações⁸; assim, um material citotóxico, como o OZE, utilizado no selamento de perfurações, induz uma inflamação severa que se estende até a região do sulco gengival, ocasionando a proliferação do epitélio desta região. No grupo MTA e no grupo CPM, também foi observada a proliferação epitelial em alguns casos, porém, isto não foi acompanhado de reação inflamatória tão intensa. Pitt Ford et al.⁷⁸, utilizando o MTA como material selador de perfurações no assoalho da câmara pulpar em dentes de cães, verificaram proliferação epitelial sob o material em 30% dos casos. Segundo os autores, esta situação está relacionada com a localização e o tamanho da perfuração realizada.

É importante ressaltar que somente no grupo MTA foi observado um material acidófilo com arranjo irregular e aspecto homogêneo situado no ligamento periodontal subjacente à perfuração. Este material,

contendo algumas células aprisionadas no interior de lacunas, estendia-se em direção à cavidade do assoalho da câmara pulpar e mostrou características similares ao tecido ósseo descrito por diversos autores^{46,73,78,113}. Além disso, justapostas à superfície deste material, foram observadas células mononucleadas com aspecto similar a osteoblastos^{23,54-55}. O fato de este material estar presente no ligamento periodontal, porém, estendo-se ao interior da perfuração, indica que representa um tecido neoformado. A presença de células similares aos osteoblastos justapostos à superfície deste tecido, a presença de diversos vasos sanguíneos e a ausência de osteoclastos e/ou células multinucleadas gigantes reforça a idéia de que este material está sendo neoformado. Portanto, estes resultados indicam que o MTA permitiu a formação de um tecido mineralizado semelhante ao osso no ligamento periodontal subjacente à perfuração na região de furca. A formação de tecido mineralizado em contato com o MTA utilizado no selamento de perfurações de furca foi também observada por outros autores^{45,47,78,113}. No período experimental de 30 dias, o tecido mineralizado neoformado, geralmente, é descrito como uma fina camada acidófila^{47,113}. Estruturas neoformadas, com aspectos similares ao de tecido mineralizado em contato com o MTA, são descritas com maior frequência após 90-180 dias de período experimental^{44,47,78,113}. É possível que a formação deste tecido esteja relacionada à capacidade do MTA de liberar cálcio aos tecidos, favorecendo a precipitação de carbonato de cálcio⁴⁸⁻⁴⁹. Foi demonstrado que ao redor dos precipitados de carbonato de cálcio ocorre o acúmulo de fibronectina, a qual favorece a proliferação e adesão celular e, conseqüentemente, a formação de matriz de tecido mineralizado⁹⁰. Além disso, os íons cálcio parecem estimular a produção de osteopontina e da proteína óssea morfogenética-2 e, dessa maneira, controlar o processo de formação de tecido mineralizado⁸⁰.

No período de 60 dias, o ligamento periodontal subjacente às perfurações apresentou significativa redução no número de células inflamatórias e número de osteoclastos TRAP-positivos. Embora, no grupo OZE, tenha sido também verificado redução significativa no número de células inflamatórias, deve-se ressaltar que o valor médio, obtido aos 60 dias, foi semelhante ao observado nos materiais à base de MTA nos períodos iniciais (07 e 15 dias). Possivelmente, estes resultados possam explicar o alto índice de osteoclastos na superfície óssea, conforme observado no grupo OZE aos 60 dias, que foi significativamente maior em relação aos demais grupos (MTA, CPM e controle) os quais não apresentaram diferenças estatisticamente significantes. Estes resultados reforçam a idéia que a diferenciação e ativação dos osteoclastos estão sob a influência de fatores locais, os quais são constituídos, principalmente, pelas citocinas produzidas e liberadas pelas células inflamatórias^{53,70,75}. A diminuição significativa observada nos grupos MTA e CPM no número de osteoclastos associada à presença de uma camada contínua de osteoblastos justapostos à superfície do processo alveolar indica o término da reabsorção e intensa formação óssea. Esta hipótese é reforçada pela diminuição significativa do espaço periodontal verificada no período de 60 dias, em comparação aos demais períodos. Estes resultados mostram que o ligamento periodontal e o osso alveolar estão em processo de reparação^{53,70}, indicando que estes materiais são biocompatíveis.

Assim sendo, diante das considerações acima, os resultados mostram diferenças que nos levam a sugerir que os tecidos, sob influência de materiais à base de MTA utilizados no preenchimento de perfurações do assoalho da câmara pulpar, apresentam melhor resposta do que quando o material selador é o OZE. A neoformação de estrutura semelhante ao tecido ósseo no grupo MTA indica que este material exibe propriedades biológicas que permitem a migração e diferenciação de células semelhantes aos

osteoblastos para a região do ligamento periodontal subjacente à perfuração do assoalho da câmara pulpar. Além disso, a presença de osteoblastos na superfície do processo alveolar, paralelamente à diminuição no número de osteoclastos, no período de 60 dias, indica o restabelecimento no processo de remodelação óssea.

CONCLUSÃO

7 Conclusão

Nas condições experimentais em que esta pesquisa foi desenvolvida e com base nos resultados obtidos, podemos concluir que:

- O cimento de óxido de zinco e eugenol promoveu, no período inicial, um processo inflamatório intenso que, embora tenha diminuído ao longo dos períodos analisados, foi mais acentuado em comparação aos demais materiais.
- No grupo OZE, houve um aumento significativo de osteoclastos TRAP-positivos, o qual promoveu intensa destruição do processo alveolar e significativo aumento do espaço do ligamento periodontal.
- Em todos os grupos experimentais, a redução significativa no número de osteoclastos associada à presença de osteoblastos na superfície do processo alveolar, no período de 60 dias, indica a ocorrência de reparação óssea.
- O número de células inflamatórias e de osteoclastos, bem como o espaço do ligamento periodontal, foram menores nos grupos MTA e CPM. Portanto, os materiais à base de MTA parecem apresentar maior biocompatibilidade em relação ao OZE.
- Comparando os dois materiais à base de MTA, o CPM induziu um menor processo inflamatório em comparação ao MTA, em todos os períodos analisados. No entanto, no período de 60 dias, não houve

diferenças no número de osteoclastos e na espessura do ligamento periodontal entre os grupos MTA e CPM.

- A ocorrência de neoformação de tecido mineralizado, com aspecto semelhante ao tecido ósseo, foi observada no ligamento periodontal, subjacente à perfuração do assoalho da câmara pulpar, apenas no grupo MTA.

REFERÊNCIAS

8 Referências*

- 1- Abdullah R, PittFord TR, Papaioannou S, Nicholson J, McDonald F. An evaluation of accelerated Portland cement as a restorative material. *Biomaterials*. 2002; 23: 4001-10.
- 2- Adelin WE, Shabahang S, Wright K, Torabinejad M. Identification of hard tissue after experimental pulp capping using Dentin Sialoprotein (DSP) as a marker. *J Endod*. 2003; 29: 646-50.
- 3- Aguirre R, ElDeeb ME, ElDeeb ME. Evaluation of the repair of mechanical furcation perforations using amalgam, gutta-percha, or Indium foil. *J Endod*. 1986; 12: 249-56.
- 4- Al-Daafas A, Al-Nazhan S. Histological evaluation of contaminated furcal perforation in dogs' teeth repaired by MTA with or without internal matrix. *Oral Surg Oral Med Oral Radiol Endod*. 2007; 103: 92-9.
- 5- American Association of Endodontists Glossary of Endodontic Terms. 8th ed. 2006.
- 6- 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. New York, NY: Am National Standards Institute; 1979.
- 7- Arens DE, Torabinejad M. Repair of furcal perforations with mineral trioxide aggregate. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1996; 82: 84-8.
- 8- Balla R. Histological study of furcation perforations treated with tricalcium phosphate, hidroxyapatite, amalgam and Life. *J Endod*. 1991;17:234-8.

* De acordo com o estilo Vancouver. Disponível no site: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

-
- 9- Batista RFC, Hidalgo MM, Hernandez L, Consolaro A, Velloso TRG, Cuman RKN, et al.. Microscopic analysis of subcutaneous reactions to endodontic sealer implants in rats. *J Biomed Mater Res.* 2007; 81A: 171–7.
 - 10- Becker RM, Hume WR, Wolinsky LE. Release of eugenol from mixtures of ZOE in vitro. *J Pedod.* 1983; 8: 71–7.
 - 11- Bernabé PFE. Estudo histopatológico realizado em dentes de cães com lesão periapical após apicectomia e tratamento endodôntico via retrógrada. Influência da obturação e do material obturador. Tese de Livre-Docência. Araçatuba: Faculdade de Odontologia da UNESP; 1994.
 - 12- Bezerra-Silva LA, Leonardo MR, Faccioli LH, Figueiredo F. Inflammatory response to calcium hydroxide based root canal sealers. *J Endod.* 1997; 23: 86-90.
 - 13- Blackman R, Gross M, Seltzer S. An evaluation of the biocompatibility of a glass ionomer-silver cement in rat connective tissue. *J Endod.* 1989; 15: 76-8.
 - 14- Boabaid F, Cerri PS, Katchburian E. Apoptotic bone cells may be engulfed by osteoclasts during alveolar bone resorption in young rats. *Tissue Cell.* 2001; 33: 318-25.
 - 15- Bondra DL, Hartwell GR, MacPherson MG, Portell FR. Leakage in vitro with IRM, High Copper Amalgam, and EBA Cement as retrofilling materials. *J Endod.* 1989; 15: 157-60.
 - 16- Bortoluzzi EA, Broon NJ, Duarte MAH, Demarchi ACCO, Bramante CM. The use of a setting accelerator and its effect on pH and calcium ion release of Mineral Trioxide Aggregate and white Portland cement. *J Endod.* 2006; 32: 1194–7.

-
- 17- Bortoluzzi EA, Broon NJ, Bramante CM, Garcia RB, de Moraes IG, Bernardinelli N. Sealing ability of MTA and radiopaque Portland cement with or without calcium chloride for root-end filling. *J Endod.* 2006; 32: 897-900.
 - 18- Bortoluzzi EA, Broon NJ, Bramante CM, Consolaro A, Garcia RB, de Moraes IG et al. Mineral Trioxide Aggregate with or without calcium chloride in pulpotomy. *J Endod.* 2008; 34: 172-5.
 - 19- Bramante CM. Acidentes e complicações na abertura coronária. In: Bramante CM, Berbert A, de Moraes IG, Bernardinelli N, Garcia RB. *Acidentes e complicações no tratamento endodôntico.* São Paulo: Editora Santos; 2003. p. 19-56.
 - 20- Bramante CM, Berbert A. Root perforations dressed with calcium hydroxide or zinc oxide and eugenol. *J Endod.* 1987; 13: 392-5.
 - 21- Camilleri J. The physical properties of accelerated Portland cement for endodontic use. *Int Endod J.* 2008; 41: 151-7.
 - 22- Camilleri J, Montesin FE, Di Silvio L, PittFord TR. The chemical constitution and biocompatibility of accelerated Portland cement for endodontic use. *Int Endod J.* 2005; 38: 834-42.
 - 23- Cerri PS. Osteoblasts engulf apoptotic bodies during alveolar bone formation in the rat maxilla. *Anat Rec.* 2005; 286: 833-40.
 - 24- Cerri PS, Boabaid F, Katchburian E. Combined TUNEL and TRAP methods suggest that apoptotic bone cells are inside vacuoles of alveolar bone osteoclasts in young rats. *J Periodont Res.* 2003; 38: 223-6.
 - 25- Cintra LTA, de Moraes IG, Estrada BPF, Gomes-Filho JE, Bramante CM, Garcia RB, et al. Evaluation of tissue response to MTA and MBPC: microscopic analysis of implants in alveolar bone of rats. *J Endod.* 2006; 32: 556-8.

-
- 26- Costa MMTM, Oliveira SHPO, Gomes-Filho JE. Mechanism of calcium hydroxide-induced neutrophil migration into air-pouch cavity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008; 105: 814-21.
- 27- Cvek M, Hollender L, Nord CE. Treatment of non-vital permanent incisors with calcium hydroxide. IV – a clinical microbiological and radiological evaluation of treatment in one sitting of teeth with mature or imature root. *Odontol Revy.* 1976; 27: 93-108.
- 28- De-Deus G, Coutinho-Filho T, Reis C, Murad C, Paciornik S. Polymicrobial leakage of four root canal sealers at two different thickness. *J Endod.* 2006; 32: 998-1001.
- 29- Duarte MA, Demarchi ACO, Yamashita JC, Kuga MC, Fraga SC. pH and calcium ion release of 2 root-end filling material. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003; 95: 345-7.
- 30- 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: 122–7.
- 31- ElDeeb ME, ElDeeb M, Tabibi A, Jensen JR. An evaluation of the use of amalgam, Cavit and calcium hydroxide in the repair of furcation perforations. *J Endod.* 1982; 8: 459-66.
- 32- Endo-C.P.M.-Sealer [bula]. Responsável técnico Susana Menendez. Buenos Aires: Lab. Egeo S.R.L. bajo licencia MTM Argentina S.A.; 2005.
- 33- Erausquin J, Muruzábal M. Root canal fillings with oxide-eugenol cement in the rat molar. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1967; 24: 547-58.
- 34- Erausquin J, Muruzábal M. Tissue reaction to root canal cements in the rat molar. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1968; 26: 361-73.

-
- 35- Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Júnior O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J.* 1995; 6: 85-90.
- 36- Federation Dentaire International Recommends standard practices for biological evaluation of dental materials. FDI Commission on Dental Materials, Equipment and Therapeutics. Part 4.11: Subcutaneous implantation test. *Int Dent J.* 1980; 30: 173–4.
- 37- Ferreira MB, Kairalla E, Hoshina R, Lage-Marques JL. Análise de espectrometria de fluorescência de Raios-X e Difractometria de Raios-X dos cimentos MTA, CPM e CPM Sealer. *Braz Oral Res.* 2005; 19 (Suppl 1): 165.
- 38- Figueiredo JA, Pesce HF, Gioso MA, Figueiredo MAS. The histological effects of four endodontic sealers implanted in the oral mucosa: Submucous injection versus implant in polyethylene tubes. *Int Endod J.* 2001; 34: 377–85.
- 39- Grossman LI. An improved root canal cement. *JADA.* 1958; 56: 381-5.
- 40- Hamamoto Y, Nakajima T, Ozama H. Histological changes in periodontal tissues of rat molars following perforation of the pulp and its floor. *Shika Kiso Igakkai Zasshi.* 1989; 31: 627-37.
- 41- Harsanyi BB, Angelopoulos AP, Gourley JM. Subcutaneous tissue response to composite resins in dogs. *Oral Surg.* 1974; 37: 309-19.
- 42- Hashieh IA, Pommel L, Jean Camps. Concentration of eugenol apically released from zinc oxide-eugenol-based sealers. *J Endod.* 1999; 25: 713-5.
- 43- Hendry JA, Jeanson BG, Dummett CO, Burrell W. Comparison of calcium hydroxide and zinc oxide and eugenol pulpectomies in primary teeth of dogs. *Oral Surg.* 1982; 54: 445-51.

-
- 44- Holland R, Souza V. Ability of a new calcium hydroxide root canal filling material to induce hard tissue formation. *J Endod.* 1985; 11: 535-43.
- 45- Holland R, Ferreira LB, Souza V, Otoboni Filho JA, Murata SS, Dezan Jr E. Reaction of the lateral periodontium of dogs' teeth to contaminated and noncontaminated perforations filled with Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod.* 2007; 33: 1192-7.
- 46- Holland R, Mazuqueli L, Souza V, Murata SS, Dezan Jr 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.
- 47- Holland R, Otoboni Filho JA, Souza V, Nery MJ, Bernabé PFE, Dezan Jr E. Mineral Trioxide Aggregate repair of lateral root perforation. *J Endod.* 2001; 27: 281-4.
- 48- Holland R, Souza V, Nery MJ, Bernabé PFE, Otoboni Filho JA, Dezan Jr E. Calcium salts deposition in rat connective tissue after the implantation of calcium hydroxide-containing sealers. *J Endod.* 2002; 28: 173-6.
- 49- Holland R, Souza V, Nery MJ, Otoboni Filho JA, Bernabé PFE, Dezan Jr E. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tube filled with Mineral Trioxide Aggregate and Calcium Hydroxide. *J Endod.* 1999; 25: 161-6.
- 50- Holland R, Souza V, Nery MJ, Faraco Júnior IM, Bernabé PFE, Otoboni Filho JA et al. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with a white mineral trioxide aggregate. *Braz Dent J.* 2002; 13: 23-6.
- 51- Hoover J, Thoma GW, Madden RM. The effect of endodontic sealers on bone. *J Endod.* 1980; 6: 586-90.

-
- 52- Kaplan AE, Ormaechea MF, Picca M, Canzobre MC, Ubios AM. Rheological properties and biocompatibility of endodontic sealers. *Int Endod J*. 2003; 36: 527–32.
- 53- Katagiri T, Takahashi N. Regulatory mechanisms of osteoblast and osteoclast differentiation. *Oral Diseases*. 2002; 8; 147-59.
- 54- Katchburian E, Arana VE. *Embriologia e Histologia Oral*. 2^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
- 55- Katchburian E, Cerri PS. Formação e destruição óssea. In: Cardoso RJA, Gonçalves EAN. *Odontologia*. São Paulo: Artes Médicas; 2002. p. 437-45.
- 56- King KT, Anderson RW, Pashley DH, Pantera Jr EA. Longitudinal evaluation of the seal of endodontic retrofillings. *J Endod*. 1990; 16: 307-10.
- 57- Kogan P, He J, Glickman GN, Watanabe I. The effects of various additives on setting properties of MTA. *J Endod*. 2006; 32: 569-72.
- 58- Kolokouris I, Economides N, Beltes P, Vlemmas. In vivo comparison of the biocompatibility of two root canal sealers implanted into the subcutaneous connective tissue of rats. *J Endod*. 1998; 24: 82–5.
- 59- Kozam G, Mantell GM. The effect of eugenol on oral mucous membranes. *J Dent Res*. 1978; 57: 954–7.
- 60- Krakow AA, deStoppelaar JD, Gron P. In vivo study of temporary filling materials used in endodontics in anterior teeth. *Oral Surg*. 1977; 43: 615-20.
- 61- Kumar V, Abbas A, Fausto N. Inflamação aguda e crônica. In: Kumar V, Abbas A, Fausto N. *Robbins e Cotran, bases patológicas das doenças*. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005. p. 49-90.
- 62- Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. *J Endod*. 1993; 19: 541-4.

-
- 63- Leonardo MR, Leal JM. Materiais obturadores de canais radiculares. In: Leonardo MR. Endodontia: tratamento de canais radiculares: princípios técnicos e biológicos. São Paulo: Artes Médicas; 2005. p. 1063-145.
- 64- Leonardo MR, Silva LAB, Utrilla LS, Assed S, Ether SS. Calcium hydroxide root canal sealers – histopathologic evaluation of apical repair after endodontic treatment. J Endod. 1997; 23: 428-32.
- 65- Li CY, Yam LT, Lam KW. Studies of acid phosphatase isoenzymes in human leukocytes. Demonstration of isoenzyme cell specificity. J Histochem Cytochem. 1970; 18: 901-10.
- 66- Lindqvist L, Otteskog P. Eugenol: liberation from dental materials and effect on human diploid fibroblast. Scand J Dent Res. 1981; 88: 552-6.
- 67- Minkin C. Bone acid phosphatase: tartrate-resistant acid phosphatase as a marker of osteoclast function. Calcif Tissue Int. 1982; 34: 285-90.
- 68- Molnar EJ. Residual eugenol from zinc oxide–eugenol compounds. J Dent Res. 1967; 46: 645–9.
- 69- Morse DR, Wilcko JM, Pullon PA, Furst ML, Passo AS. A comparative tissue toxicity evaluation of the liquid components of gutta-percha root canal sealers. J Endod. 1981; 7: 545–50.
- 70- Mundy GR. Inflammatory mediators and the destruction of bone. J Periodont Res. 1991; 26: 213-7.
- 71- Nakata TT, Bae KS, Baumgartner JC. Perforation repair comparing mineral trioxide aggregate and amalgam using an anaerobic bacterial leakage model. J Endod. 1998; 24: 184-6.
- 72- Nicholls E. Retrograde filling of the root canal. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1962; 15: 463-73.

-
- 73- Noetzel J, Özer K, Reissauer BH, Anil A, Rössler R, Neumann K et al. Tissues responses to an experimental calcium phosphate cement and mineral trioxide aggregate as materials for furcation perforation repair: a histological study in dogs. *Clin Oral Investig*. 2006; 10: 77-83.
- 74- O'Shea JJ, Murray PJ. Cytokine signaling modules in inflammatory responses. *Immunity*. 2008; 28: 477-87.
- 75- Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res*. 1991; 26: 230-42.
- 76- Phan TCA, Xu J, Zheng MH. Interaction between osteoblast and osteoclast: impact in bone disease. *Histol Histopathol*. 2004; 19: 1325-44.
- 77- Pitt-Ford TR, Andreasen JO, Dorn SO, Kariyawasam SP. Effect of various zinc oxide materials as root-end fillings on healing after replantation. *Int Endod J*. 1995; 28: 273-8.
- 78- Pitt-Ford TR, Torabinejad M, McKendry DJ, Hong CU, Kariyawasam SP. Use of mineral trioxide aggregate for repair of furcal perforations. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1995; 79: 756-72.
- 79- Pitt-Ford TR, Torabinejad M, Hamid R, Abedi BDS, Bakland LK, Kariyawasam SP. Using Mineral Trioxide Aggregate as a pulp-capping material. *J Am Dent Assoc*. 1996; 127: 1491-4.
- 80- Rashid F, Shiba H, Mizuno N, et al. The effect of extracellular calcium ion on gene expression of bone-related proteins in human pulp cells. *J Endod* 2003; 29: 104 –7.
- 81- Rowe AHR. Problems of intracanal testing of endodontic materials. *Int Endod J*. 1980; 13: 96-103.
- 82- Sabir A, Tabbu CR, Agustiono P, Sosroseno W. Histological Analysis of rat dental pulp tissue capped with propolis. *J Oral Sci*. 2005; 47: 135-8.

-
- 83- Salako N, Joseph B, Ritwik P, Salonen J, John P, Junaid TA. Comparison of bioactive glass, mineral trioxide aggregate, ferric sulfate, and formocresol as pulpotomy agents in rat molar. *Dent Traumatol.* 2003; 19: 314-20.
- 84- Santos AD, Moraes JCS, Araújo EB, Yukimitu K, Valério Filho WV. Physico-chemical properties of MTA and a novel experimental cement. *Int Endod J.* 2005; 38: 443-7.
- 85- Sarkar NK, Caicedo R, Ritwik P, Moiseyeva R, Kawashima I. Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2005; 31: 97–100.
- 86- Scapini P, Lapinet-Vera JA, Gasperini S, Calzetti F, Bazzoni F, Cassatella MA. The neutrophil as a cellular source of chemokines. *Immunol Rev.* 2000; 177: 195–203.
- 87- Sela J, Ulmansky M. Reaction of normal and inflamed dental pulp to Calxyl and zinc oxide and eugenol. *Oral Surg.* 1970; 30: 425-30
- 88- Seltzer S, Bender IB. Some influences affecting repair of the exposed pulps of dogs' teeth. *J Dent Res.* 1958; 37: 678-87.
- 89- Seltzer S, Sinai I, August D. Periodontal effects of root perforations before and during endodontic procedures. *J Dent Res.* 1970; 49: 332-9.
- 90- Seux D, Couble ML, Hartmann DJ, Gauthier JP, Magloire H. Odontoblast-like cytodifferentiation of human dental pulp cells in vitro in the presence of calcium hydroxide cement. *Arch Oral Biol.* 1991; 36: 117-28.
- 91- Shabahang S, Torabinejad M, Boyne PP, Abedi H, McMillan P. A comparative study of root-end induction using osteogenic protein-1, calcium hydroxide, and Mineral Trioxide Aggregate in dogs. *J Endod.* 1999; 25: 1-5.

-
- 92- Shahi S, Rahimi S, Lotfi M, Yavari H, Gaderian A. A comparative study of the biocompatibility of three root-end filling materials in rat connective tissue. *J Endod*. 2006; 32: 776–80.
- 93- Sinai IH. Endodontic perforations: their prognosis and treatment. *JADA*. 1977; 95: 90-5.
- 94- Sipert CR, Hussne RP, Nishiyama CK, Torres SA. In vitro antimicrobial activity of Fill Canal, Sealapex, Mineral Trioxide Aggregate, Portland Cement and EndoRez. *Int Endod J*. 2005; 38: 539-43.
- 95- Sluyk SR, Moon PC, Hartwell GR. Evaluation of setting properties and retention characteristics of mineral trioxide aggregate when used as a furcation perforation repair material. *J Endod*. 1998; 24: 768-71.
- 96- Smith JA. Neutrophils, host defense, and inflammation: a double-edged sword. *J Leukoc Biol*. 1994; 56: 672-86.
- 97- Tagger M, Tagger E. Subcutaneous reactions to implantation of tubes with AH26 and Grossman's sealer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1986; 62: 434-40.
- 98- Takita T, Hayashi M, Takeichi O, Ogiso B, Suzuki N, Otsuka K, et al. Effect of mineral trioxide aggregate on proliferation of cultured human dental pulp cells. *Int Endod J*. 2006; 39: 415–22.
- 99- Tanomaru-Filho M, Laitano SC, Gonçalves M, Tanomaru JMG. Evaluation of the radiopacity of root end filling materials by digitization of radiographic images. *Braz J Oral Sci*. 2002; 5: 1018-21.
- 100- Tobias RS, Browne RM, Wilson CA. Antibacterial activity of dental restorative materials. *Int Endod J*. 1985; 18: 161-71.
- 101- Torabinejad M, Watson TF, Pitt-Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *J Endod*. 1993; 19: 591-5.

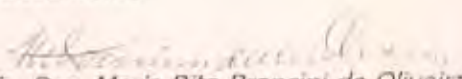
-
- 102- Torabinejad M, Higa RK, McKendry DJ, Pitt-Ford TR. Dye leakage of four root end filling materials: effects of blood contamination. J Endod. 1994; 20: 159-63.
- 103- Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. J Endod. 1995; 21: 349-53.
- 104- Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Cytotoxicity of four root end filling materials. J. Endod. 1995; 21: 489-92.
- 105- Torabinejad M, Rastegar AF, Kettering JD, Pitt Ford TR. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. J Endod. 1995; 21: 109-12.
- 106- Torabinejad M, Smith PW, Kettering JD, Pitt Ford TR. Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. J Endod. 1995; 21: 295-9.
- 107- Torabinejad M, Hong CU, Lee SJ, Monsef M, Pitt Ford TR. Investigation of mineral trioxide aggregate for root-end filling material. J Endod. 1995; 21: 603-8.
- 108- Vosoughhosseini S, Lotfi M, Shahi S, Baloo H, Mesgariabbasi M, Ali Saghiri M, et al. Influence of White versus Gray Mineral Trioxide Aggregate on Inflammatory Cells. J Endod. 2008; 34: 715-7.
- 109- Whal SM. Inflammation and growth factors. J Urol. 1997; 157: 303-5.
- 110- Xie D, Brantley WA, Culbertson BM, Wang G. Mechanical properties and microstructures of glass-ionomer cements. Dent Mat. 2000; 16: 129-38.
- 111- Yaltrik M, Ozbas H, Biligic B, Issever H. Reactions of connective tissue to mineral trioxide aggregate and amalgam. J Endod. 2004; 30: 95-9.

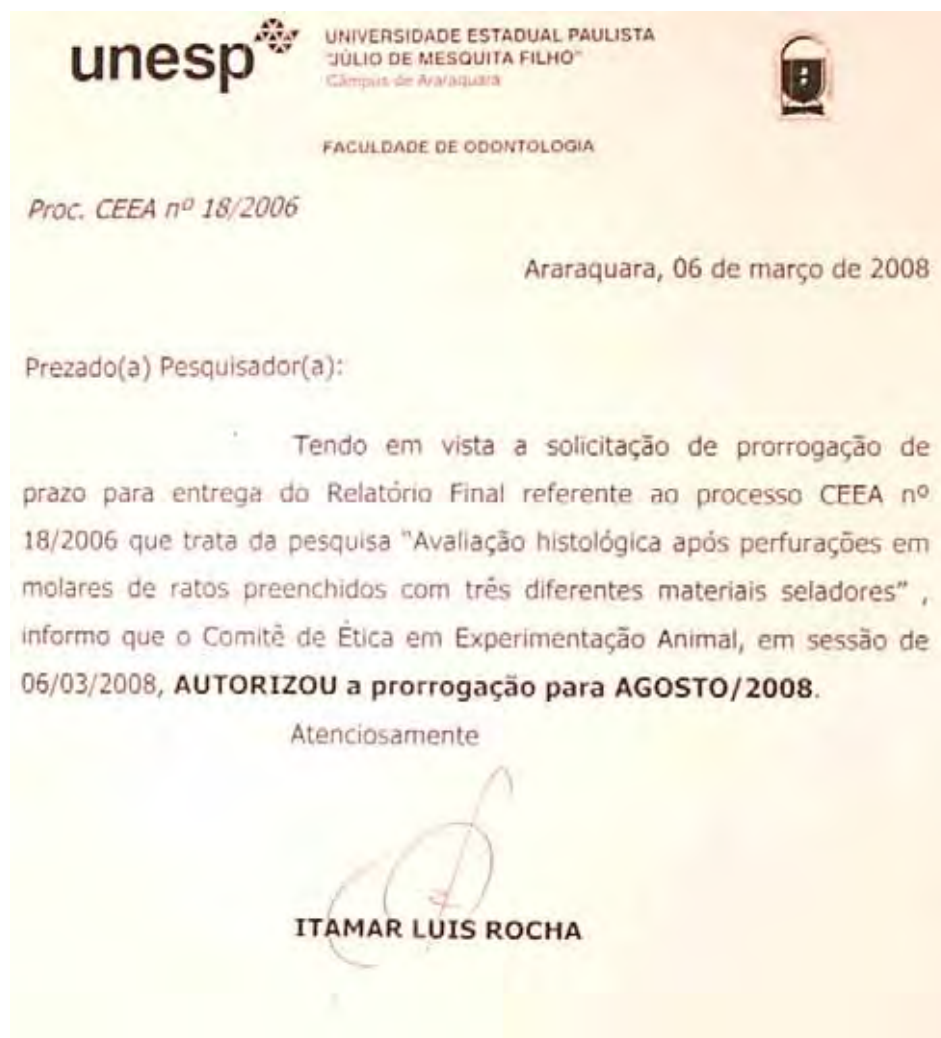
- 112- Yamazaki T, Schricker SR, Brantley WA, Culbertson BM, Johnston W. Viscoelastic behavior and fracture toughness of six ionomer cements. J Prosthet Dent. 2006; 96: 266-72.
- 113- Yildirim T, Gençoglu N, Firat I, Perk C, Guzel O. Histologic study of furcation perforations treated with MTA or Super EBA in dogs' teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005; 100: 120-4.
- 114- Zander HA. Reaction of the pulp to calcium hydroxide. J Dent Res. 1936; 18: 373-9.

ANEXOS

Anexos

Anexo 1 – 1A

	UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO" Câmpus de Araraquara FACULDADE DE ODONTOLOGIA		
<i>Proc. CEEA nr. 18/2006</i>			
Araraquara, 22 de novembro de 2006			
Senhores Pesquisadores:			
O Comitê de Ética em Experimentação Animal-CEEA desta Faculdade reunido em <i>22/11/2006</i>, após a avaliação do projeto de sua responsabilidade intitulado "<i>Avaliação histológica após perfurações em molares de ratos preenchidas com três diferentes materiais seladores</i>" (Proc. CEEA nr. 18/2006) AUTORIZA a realização da pesquisa, ficando a aprovação vinculada à apresentação do RELATÓRIO FINAL em FEVEREIRO/2008.			
Atenciosamente.			
 Profa. Dra. Maria Rita Brancini de Oliveira Coordenadora do CEEA			

Anexo 1 – 1B

Anexo 2**Nomenclaturas Químicas***

- **Al₂O₃**: óxido de alumínio
- **Bi₂O₃**: óxido de bismuto
- **CaO**: óxido de cálcio
- **Fe₂O₃**: óxido ferroso
- **K₂O**: óxido de potássio
- **MgO**: óxido de magnésio
- **Na₂O**: óxido de sódio
- **SiO₂**: óxido de silício
- **SO₃**: óxido de enxofre

*IUPAC, the International Union of Pure and Applied Chemistry. 2007.

<http://www.iupac.org>