

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA
NÍVEL – DOUTORADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM ENDODONTIA

PASTAS À BASE DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO –
Avaliação da biocompatibilidade, pH e liberação de
íons cálcio

MARCUS VINICIUS REIS SÓ

Araraquara – 2005

MARCUS VINICIUS REIS SÓ

**PASTAS À BASE DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO –
Avaliação da biocompatibilidade, pH e liberação de íons
cálcio**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Araraquara,
da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
para obtenção do título de Doutor em Endodontia.

Orientador: **Profa. Dr. Léa Assed Bezerra da Silva**

Araraquara

2005

Só, Marcus Vinicius Reis

Pastas à base de hidróxido de cálcio. Avaliação da biocompatibilidade, pH e liberação de íons cálcio / Marcus Vinicius Reis Só. – Araraquara : [s.n.], 2005.

107 f. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia.

Orientador: Profa. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva

1. Endodontia 2. Compostos químicos. 3. Concentração de íons de hidrogênio 4. Histocompatibilidade. I. Título

DADOS CURRICULARES

Marcus Vinicius Reis Só

Nascimento	29 de julho de 1962, Porto Alegre-RS
Filiação	Mário Gilberto Sarmento Só Vera Teresinha Reis Só
1981/1984	Curso de Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia da Universidade Federal Rio Grande do Sul – UFRGS.
1986	Curso de Especialização em Endodontia pela Faculdade de Odontologia da UFRGS
1997/1999	Curso de Mestrado em Endodontia pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Luterana do Brasil
1992	Professor Adjunto de Endodontia do Curso de Odontologia da Universidade Luterana do Brasil – ULBRA, Canoas – RS.
2002/2005	Curso de Pós-Graduação em Odontologia, nível de Doutorado, área de Endodontia na Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

DEDICATÓRIA

A **Deus**, que em sua imensa bondade me concedeu mais esta oportunidade.

À minha esposa **Lúcia Regina**: sem sua compreensão, cobertura, dedicação e amor à nossa família teria sido impossível essa jornada. Agradecer seria pouco, sou eternamente grato.

Aos meus filhos **Gabriel e Bruna**: nada disso teria sentido sem ter vocês ao meu lado. Mesmo na minha ausência, vocês compreenderam o quanto isso era necessário, e que embora distante os nossos corações estavam muito próximos. Vocês são o maior tesouro que já conquistei.

Aos meus pais **Mário e Vera**: “Doutores na Vida”, o que vocês ensinaram é a base para todas as atividades que aprendi a exercer com tanto amor. Exemplos de dignidade, honestidade e amor aos seus filhos.

AGRADECIMENTOS

À minha irmã **Carla**: pelo incentivo e energia.

À minha sogra **Maria Barcelos**: obrigado pelo apoio nos momentos em que eu não estava presente.

À **Wânia Só**: por ter ajudado a organizar as atividades profissionais quando da realização desse curso.

Ao Prof. **Orlando Limongi**: por acreditar que esse sonho poderia ser possível, pelo apoio incondicional quando da decisão, pela acolhida nos momentos difíceis.

Ao Prof. Dr. **Ricardo Macedo**: por entender que esse objetivo se fazia necessário para o nosso curso.

Ao Prof. Dr. **Elias Oliveira**: sua integridade de caráter, disciplina, organização e amizade são lições que jamais esquecerei.

Ao Prof. Dr. **Fernando Barletta**: lealdade, sinceridade e companheirismo têm marcado nossa trajetória. Você é um exemplo, obrigado.

Aos colegas de disciplina de Endodontia da ULBRA: **Alexandre Salles, Mário Queiróz, Suzana Loforte e Luis Eduardo Irala**, pela amizade e cobertura dada durante o meu afastamento.

Às Prof^{as} **Patrícia Kopper, Ana Paula e Jussara**: pela ajuda na realização desse trabalho. Sem vocês essa tarefa seria muito mais difícil.

Ao Prof. **Raul**: pela qualidade das fotos obtidas neste estudo.

À Prof^a **Fabiana Vier**: pelo ombro amigo nos momentos difíceis, meu reconhecimento.

Aos acadêmicos **Leandro, Alice Torres e Roberta Gutheil**: conhecer vocês, me fez crescer e ver o quanto é importante aprender a ensinar.

Aos **Alunos do Curso de Especialização em Endodontia da ULBRA**, em especial a **Janaína e a Vanessa**: alunas dedicadas e importantes nessa trajetória.

Às funcionárias **Rose e Clarence**: pela grande dedicação na confecção das lâminas histológicas.

Ao Prof. **Emerson**: pelos ensinamentos de Química analítica fundamentais para esse trabalho.

À **ULBRA**: pela garantia e segurança durante o desenvolvimento deste curso.

Ao Prof. Dr **Mário Tanomaru**: exemplo a ser seguido por todos aqueles se dedicam ao ensino e a pesquisa. Obrigado por acreditar que eu conseguiria.

Ao Prof. Dr. **Renato Leonardo**: pelo aprendizado, amizade, convivência e carinho com que fui recebido. Espero um dia poder retribuir.

Aos Profs. Drs. **Roberto Miranda Esberard, Idomeo Bonetti Filho, Fábio Berbert**: pela disponibilidade e pelos belos momentos proporcionados.

Aos meus colegas de Doutorado: **Juliane Tanomaru, Paulo Tadeu da Silva, Eliane Gullin e João Vicente**; o espírito de família que juntos formamos, tornou essa jornada muito mais prazerosa. Deus permita que possamos continuar essa amizade ao longo de nossas vidas.

Às funcionárias **Célia, Mara e Maria Helena**: o trabalho de vocês é a garantia de um final feliz; meu muito obrigado.

À **UNESP**: por permitir a concretização de um sonho.

Ao **CNPQ**: pelo apoio financeiro.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Prof. Dr. **Mário Roberto Leonardo**:

É difícil escrever, é difícil falar, pois minha voz fica embargada. Um dia sonhei conhecê-lo, e quando pela primeira vez me deparei em frente a sua porta no terceiro andar dessa Faculdade de Odontologia, compreendi a importância e a responsabilidade do curso que eu estava começando. Muito obrigado do fundo do coração por todos os ensinamentos, principalmente por me ensinar a amar, ainda mais, à Endodontia.

À Prof^a. Dr. **Léa Assed Bezerra da Silva**:

Sua inteligência, organização, capacidade intelectual e retidão de caráter são exemplos a serem seguidos por todos aqueles que amam a pesquisa. Minha orientadora, muito obrigado pela confiança em mim depositada, pela mão estendida, pelo carinho com que fui recebido, enfim pela construção desse trabalho que juntos fizemos.

Ao Prof. Dr. **José Antônio Poli de Figueiredo**:

Você é muito mais do que um professor; é um grande amigo que fui conquistando ao longo do tempo. Sua amizade sincera me fez mestre e hoje assiste a mais essa conquista. Obrigado por existir.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	
LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE ABREVIATURAS	
1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DA LITERATURA	20
3 PROPOSIÇÃO	38
4 MATERIAL E MÉTODO	40
4.1- Análise Química das pastas à base de hidróxido de cálcio – Liberação de íons cálcio e pH	41
4.1.1-Escolha das pastas e pesagem das amostras	42
4.1.2-Liberação de íons cálcio	42
4.1.3- Análise dos íons hidroxila (pH)	43
4.2- Biocompatibilidade das pastas à base de hidróxido de cálcio	44
4.2.1- Aquisição dos animais	44
4.2.2- Amostragem	44
4.2.3- Preparo dos corpos de prova	44
4.2.4- Procedimentos clínicos	47
4.2.4.1- Anestesia dos ratos	47
4.2.4.2- Implante no tecido subcutâneo	47
4.2.4.3- Morte dos animais	48
4.2.5- Obtenção das peças histológicas	49
4.2.6- Processamento histológico	49
4.2.7- Análise dos resultados	49

4.2.8- Análise estatística	51
5 RESULTADOS	52
6 DISCUSSÃO	69
7 CONCLUSÕES	80
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
ANEXOS	96
RESUMO	
ABSTRACT	

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1-** Média e desvio padrão do pH, das pastas de hidróxido de cálcio, nos diferentes tempos experimentais 53
- TABELA 2-** Média e desvio padrão da liberação de cálcio, das pastas de hidróxido de cálcio, nos diferentes tempos experimentais 55
- TABELA 3-** Médias e desvios padrões dos escores, dos eventos celulares no período de 7 dias 57
- TABELA 4-** Médias e desvios padrões dos escores, dos eventos celulares no período de 30 dias 58
- TABELA 5-** Valores de p, através da ANOVA – 2 vias e Wilcoxon, dos eventos celulares, quando da comparação das pastas de hidróxido de cálcio entre 7 e 30 dias 59

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1-** Pasta controle 7 dias - 100X - presença de neutrófilos próximo à área de contato com o material 60
- FIGURA 2-** Pasta controle 7 dias - 200X - presença de neutrófilos próximo à área de contato com o material 60
- FIGURA 3-** Pasta controle 7 dias - 400X - presença de neutrófilos próximo à área de contato com o material 61
- FIGURA 4-** Pasta Calcicur 7 dias - 100X - infiltrado linfo-plasmocitário próximo ao material, bem como a presença de vasos neoformados 61
- FIGURA 5-** Pasta Calcicur 7 dias - 200X - infiltrado linfo-plasmocitário próximo ao material, bem como a presença de vasos neoformados 62
- FIGURA 6-** Pasta Calcicur 7 dias - 400X - macrófagos e gigantócitos, infiltrado linfo-plasmocitário e vasos neoformados próximo à área de formação fibrosa 62
- FIGURA 7-** Pasta UltraCal 7 dias - 100X -infiltrado neutrofílico e linfo-plasmocitário 63
- FIGURA 8-** Pasta UltraCal 7 dias - 200X -infiltrado neutrofílico e linfo-plasmocitário 63
- FIGURA 9-** Pasta UltraCal 7dias - 400X- presença de macrófagos, linfócitos e plasmócitos, bem como vasos neoformados próximo à trama fibrosa 64

FIGURA 10- Pasta controle 30 dias -100X - formação fibrosa fina e tecido normal ao redor do material	64
FIGURA 11- Pasta controle 30 dias - 200X - macrófagos e gigantócitos próximo à fina camada fibrosa	65
FIGURA 12- Pasta controle 30 dias - 400X - gigantócitos envolvendo o material	65
FIGURA 13- Pasta Calcicur 30 dias - 100X - fina camada fibrosa e poucas células Inflamatórias	66
FIGURA 14- Pasta Calcicur 30 dias - 200X - fina camada fibrosa e poucas células Inflamatórias	66
FIGURA 15- Pasta Calcicur 30 dias - 400X - fina camada fibrosa e poucas células Inflamatórias	67
FIGURA 16- Pasta UltraCal 30 dias - 100X -fina camada fibrosa e poucas células Inflamatórias	67
FIGURA17- Pasta UltraCal 30 dias - 200X- fina camada fibrosa e alguns gigantócitos	68
FIGURA 18- Pasta UltraCal 30 dias - 400X - fibroblastos e fibrócitos próximos ao material	68

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA- Análise da Variância
ATPase – Adenosina trifosfatase
CHX – Clorexidina
cm – Centímetro
CRCS – Calciumbiotic Root Canal Sealer
EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético
g - Grama
KCl – Cloreto de potássio
mA – Miliampere
mg – Miligrama
mg/L – Miligrama por litro
mL – Mililitro
mm – Milímetro
MTA – Agravado Trióxido Mineral
 μm - Micrometro
nm – Nanômetro
p.a. – pró análise
pH – Concentração de íons hidrogênio
PMC – Paramonoclorofenol
PMCC- Paramonoclorofenol canforado
ppm – Parte por milhão
% - Porcentagem
° C – Graus Célcus
 α - Alfa
= - Igual
 μL - Microlitro

1 INTRODUÇÃO

A preservação da saúde dos dentes é o objetivo principal da Odontologia. Dentro deste contexto a Endodontia se faz presente, pois responde pela prevenção, etiologia, diagnóstico e tratamento das alterações patológicas da polpa e de suas repercussões no periodonto apical e, conseqüentemente, no organismo (Leonardo & Leal⁴⁰, 1998).

A Endodontia, como ciência e especialidade da Odontologia, está alicerçada, não somente nos princípios técnicos, mas fundamentalmente em princípios biológicos, onde o respeito aos tecidos apicais e periapicais regem o tratamento do canal radicular do início ao fim. Esses princípios estão vinculados às diferentes fases da terapia endodôntica, as quais estão entrelaçadas e apresentam o mesmo grau de importância, de tal forma que a inobservância de qualquer uma delas conduzirá ao insucesso do tratamento endodôntico.

As doenças da polpa e do periápice se iniciam quando a polpa e os tecidos periapicais ficam expostos à microbiota da cavidade bucal, sendo que, após a contaminação, o conteúdo séptico-tóxico dos canais radiculares infectados pode ser propagado para o sistema de canais radiculares e tecidos periapicais, desenvolvendo a seguir uma lesão periapical identificada clinicamente pela tomada radiográfica (Kakehashi et al.³⁰, 1965, Sundqvist⁷³, 1976, Möller et al.⁴⁴, 1981, Fabricius et al.¹⁶, 1982).

Para o combate a esse quadro instalado, a anatomia complexa dos canais radiculares é um fator limitante à técnica de preparo e obturação do canal radicular. Apesar desse fato, a preocupação com o aspecto biológico e não somente técnico, permitiu que após realização de um tratamento endodôntico o

índice de sucesso clínico e radiográfico atinja o valor de aproximadamente 90% (Sjögren et al.⁶⁵, 1990).

Desde algum tempo, tem sido atribuída grande ênfase à limpeza e modelagem do canal radicular, momento em que o profissional dispende grande tempo do seu trabalho, sendo essa etapa do tratamento a que proporciona maior fadiga ao operador. Durante esse preparo biomecânico, as soluções empregadas são também responsáveis pela limpeza e, em determinadas situações, como auxiliar da desinfecção do canal radicular. Essas soluções permitem umectar as paredes dentinárias e arrastar para o exterior do canal radicular restos de tecido pulpar vivo ou necrótico, microrganismos, raspas dentinárias e outros detritos (Só⁶⁸, 1999).

Os trabalhos científicos comprovaram que nos casos de dentes portadores de necrose pulpar e lesão periapical discernível radiograficamente, não somente a luz do canal principal apresenta-se infectada, mas também os túbulos dentinários e as ramificações que compõem o complexo sistema de canais radiculares (Byström & Sundqvist⁸, 1981, Haapasalo & Orstavik²¹, 1987, Assed⁴, 1993). A viabilidade dos microrganismos nesse sistema, aliada à impossibilidade de remoção dos mesmos, por meio de um correto preparo biomecânico (Byström & Sundqvist⁸, 1981, Fabricius et al.¹⁶, 1982, Byström et al.¹⁰, 1987, Nair et al.⁴⁶, 1990, Assed⁴, 1993, Sidney⁵⁷, 1996), são fatores que influenciam, decisivamente, no fracasso do tratamento endodôntico, reduzindo de forma significativa a tão almejada reparação tecidual.

Sendo assim, tem sido indicada uma desinfecção adicional, proposta pelo uso de um curativo de demora, com objetivo de contribuir de forma significativa para a diminuição no número de microrganismos presentes na massa dentinária e demais ramificações do canal radicular. A escolha do mesmo recai sobre as

pastas à base de hidróxido de cálcio porque elas representam, cientificamente um meio biológico de combate à infecção do sistema de canais radiculares (Torneck et al.⁷⁷, 1973, Heithersay²², 1975, Byström et al.⁹, 1985, Orstavik et al.⁵⁰, 1991, Sjögren et al.⁶⁶, 1991, Leonardo et al.³⁷, 1993, Safavi & Nichols⁵⁴, 1993, Alencar¹, 1995, Assed et al.⁵, 1996, Sidney⁵⁷, 1996, Silveira⁶¹, 1997, Alencar², 1998, Holland et al.²⁶, 1999, Leonardo et al.⁴¹, 2000, Tanomaru Filho⁷⁵, 2002).

A partir dos trabalhos de Torneck et al.⁷⁷ (1973) e Heithersay²² (1975) o hidróxido de cálcio passou a ser difundido como curativo de demora nos casos de necrose pulpar e reação periapical crônica.

A ação deste medicamento tem sido atribuída à sua dissociação iônica em íons cálcio e íons hidroxila. Essa dissociação iônica é responsável pelas propriedades biológicas que o hidróxido de cálcio apresenta. Tais propriedades incluem sua ação antimicrobiana (Byström et al.⁹, 1985, Orstavik et al.⁵⁰, 1991, Sjögren et al.⁶⁶, 1991, Safavi & Nichols⁵⁴, 1993, Safavi & Nichols⁵⁵, 1994, Leonardo et al.³⁸, 1994, Alencar¹, 1995, Assed et al.⁵, 1996, Sidney⁵⁷, 1996, Siqueira & Uzeda, 1998⁶³, Alencar², 1998, Bonetti Filho⁷, 2000, Leonardo et al.⁴¹, 2000, Nelson Filho⁴⁸, 2000) e indutora de reparo por tecido mineralizado (Holland et al.²³, 1971, Holland et al.²⁴, 1979, Leonardo et al.³⁸, 1994, Silva⁵⁸, 1988, Silva⁵⁹, 1991, Souza et al.⁷¹, 1989, Leonardo et al.³⁷, 1993, Leonardo et al.³⁹, 1995, Holland et al.²⁶, 1999, Tanomaru Filho⁷⁵, 2002).

Basicamente existem 3 tipos de veículos: aquosos, viscosos e oleosos, os quais devem permitir a dissociação iônica do hidróxido de cálcio. Os veículos aquosos (água destilada, soro fisiológico) possibilitam uma dissociação iônica mais rápida e conseqüentemente um maior contato desses íons com os tecidos e microrganismos. Os viscosos (propilenoglicol 400, polietilenoglicol 400) liberam

lenta e progressivamente íons hidroxila e cálcio permitindo também esse contato anteriormente descrito. Por outro lado, os veículos oleosos (óleo de oliva), por serem pouco solúveis em água e considerados compostos apolares proporcionam à pasta de hidróxido de cálcio pouca solubilidade e difusão junto aos tecidos (Leonardo et al.³⁵, 1992, Siqueira Jr & Lopes⁶⁴, 1999).

Sendo assim, é importante o conhecimento a respeito do veículo da pasta de hidróxido a ser empregado nas diferentes situações clínicas, pois a dissociação iônica poderá ocorrer de diferentes formas e intensidade.

As propriedades físico-químicas de pH, liberação de íons cálcio e solubilidade, das pastas de hidróxido de cálcio, têm sido motivo de inúmeros estudos pelos pesquisadores, em função da importância que tais características têm para o mecanismo de ação desse medicamento (Tronstad et al.⁸⁰, 1981, Gordon & Alexander²⁰, 1985, Pashley et al.⁵¹, 1986, Leonardo et al.³⁵, 1992, Nerwich et al.⁴⁹, 1993, Leonardo et al.³⁷, 1993, Simon et al.⁶², 1995, Esberard et al.¹⁴, 1996, Rabelo⁵², 2003).

Tão importante quanto às propriedades físico-químicas dos materiais empregados em Endodontia é a biocompatibilidade que os mesmos devem apresentar junto aos tecidos em que foram expostos. Experimentos realizados, *in vivo*, em animais de laboratório têm sido utilizados para avaliar o comportamento desses materiais frente à biologia e fisiologia dos tecidos.

O teste de biocompatibilidade, após o implante de materiais, em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos é uma metodologia largamente empregada em Odontologia, que permite avaliar a histopatologia e interpretar os resultados de um determinado material no tecido conjuntivo (Souza⁶⁹, 1976, Leal et al.³², 1988;

Zmener et al.⁸⁵, 1990; Silva et al.⁶⁰, 1997; Holland et al.²⁷, 1999, Holland et al.²⁸, 2001, Figueiredo et al.¹⁷, 2001, Trindade⁷⁹, 2003)

Parte-se do princípio que toda a substância ou material que é introduzido no mercado, para ser empregado em seres humanos, deve ser cientificamente estudado, passando por todos os níveis de pesquisa, para que se possa indicar o seu uso. Entretanto, isso nem sempre acontece, uma vez que muitos materiais são utilizados pelos profissionais e testados em pacientes sem avaliação biológica prévia. No comércio, muitos desses materiais permanecem por curto período tempo, sendo substituídos por produtos já consagrados e largamente investigados.

Recentemente introduzida no mercado nacional, a pasta à base de hidróxido de cálcio UltraCal XS (Ultradent Product, Inc. – U.S.A) e Calcicur (VOCO – Cuxhaven – Germany) vem sendo comercializada e empregada por parte dos Cirurgiões-Dentistas. Entretanto, a literatura pertinente às mesmas pouco apresenta sobre essas pastas até o presente momento. Assim parece prudente e oportuno, um estudo com relação a duas propriedades físico-químicas (liberação de cálcio e pH) e a biocompatibilidade em tecido subcutâneo de ratos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

O hidróxido de cálcio apresenta-se como um pó branco, alcalino, pouco solúvel em água. Trata-se de uma base forte, obtida a partir da calcinação (aquecimento) do carbonato de cálcio (cal viva). Com a hidratação do óxido de cálcio obtém-se o hidróxido de cálcio, e a reação entre este e o gás carbônico leva à formação de carbonato de cálcio (Siqueira Jr. & Lopes⁶⁴, 1999).

As propriedades do hidróxido de cálcio derivam de sua dissociação iônica em íon cálcio e íons hidroxila, sendo que as ações destes íons sobre os tecidos e os microrganismos explicam as propriedades biológicas e antimicrobianas desta substância.

Torneck et al.⁷⁸ (1973) avaliaram, *in vitro*, o efeito do hidróxido de cálcio sobre a divisão das células da polpa de molares decíduos de porcos recém sacrificados, tendo como parâmetro a síntese de DNA em culturas celulares. Os autores relataram que a disponibilidade de íons cálcio parece não conduzir a um aumento proporcional na síntese de DNA e que efeitos favoráveis provavelmente ocorram, quando determinadas concentrações de íons cálcio estejam sendo influenciadas por fatores do meio.

Heithersay²² (1975) salientou que os íons cálcio do hidróxido de cálcio podem reduzir a permeabilidade de novos capilares em tecido granulomatoso de dentes despolpados, diminuindo a quantidade de líquido intercelular. Além disso, uma alta concentração de íons cálcio pode ativar a pirofosfatase, uma enzima importante no processo de mineralização.

Tronstad et al.⁸⁰ (1981) observaram diferentes valores de pH nas distintas zonas da massa dentinária, após a obturação dos canais radiculares de macacos com hidróxido de cálcio. Os maiores valores de pH foram obtidos na dentina adjacente ao canal radicular e esses valores decresceram à medida que se aproximava da superfície externa da raiz.

Com o objetivo de avaliar o pH de pastas de hidróxido de cálcio com diferentes veículos, Anthony et al.³ (1982) valeram-se de dentes humanos extraídos, unirradiculares que tiveram seus canais preparados e preenchidos com pastas, tendo como veículo o PMCC, a cresatina ou a solução salina. Após o selamento coronário e a impermeabilização externa, exceto do forame, os dentes foram armazenados em frascos contendo solução salina. O pH da solução foi medido 6, 24, 48, 72 horas, 1 e 2 semanas após. Os resultados indicaram que nas primeiras horas o pH da solução, onde estavam os dentes com hidróxido de cálcio/solução salina e hidróxido de cálcio/PMCC, mostrou-se significativamente mais elevado do que a solução que continha os dentes com o hidróxido de cálcio/cresatina. A partir de 1 semana o pH das soluções contendo os dentes com as pastas foi se tornando mais próximo. Em 2 semanas, não havia diferença significativa (pH próximo a 9,0) entre os grupos.

Gordon & Alexander²⁰ (1985) estudaram o efeito do hidróxido de cálcio, em relação às variações de pH e concentração de cálcio, em tecido pulpar bovino. Segundo eles, o hidróxido de cálcio contribui para o sucesso, estimulando a formação de dentina reparadora graças ao seu alto pH e concentração de íons cálcio. A ação bactericida desta substância no interior do canal radicular depende exclusivamente do seu pH e atuando sem o suporte dos mecanismos teciduais de defesa.

Pashley et al.⁵¹ (1986) ao analisar o efeito do hidróxido de cálcio na permeabilidade dentinária, concluíram que o aumento na concentração de íons cálcio, provenientes dessa substância, no interior dos túbulos dentinários, determinou uma diminuição da permeabilidade dentinária.

Leonardo et al.³⁵ (1992) avaliaram o pH e a liberação de íons cálcio de algumas pastas e cimentos endodônticos à base de hidróxido de cálcio. As pastas analisadas foram Calasept, Calen, Calen/PMCC e pasta aquosa de hidróxido de cálcio. A leitura de pH foi realizada com peagâmetro, nos períodos de 5 e 30 minutos, 1, 3, 24, 48 e 72 horas 30 e 60 dias após. A análise de íons cálcio foi feita por espectrofotometria de absorção atômica, aos 5 minutos; 72 horas; 7, 30 e 60 dias. Observaram estabilidade dos valores de pH para a pasta aquosa de hidróxido de cálcio e Calasept, desde o início do experimento até o final do período, com valores acima de 12. As pastas Calen e Calen/PMCC apresentaram discreto aumento no pH médio até 24 horas, estabilizando-se a partir de então. A partir de 72 horas, os valores de pH da pasta Calen, Calen/PMCC e Calasept foram semelhantes, com níveis elevados, quando comparados à pasta aquosa de hidróxido de cálcio. A pasta Calasept apresentou os níveis mais elevados de liberação de cálcio até os 30 dias, declinando a partir de então, enquanto que para a pasta Calen os valores foram ascendentes, por todo o período experimental, atingindo máxima liberação aos 60 dias.

Leonardo et al.³⁶ (1993) avaliaram, *in vitro*, a solubilidade, pH e liberação de cálcio de pastas de hidróxido de cálcio associadas ao PMCC e PMC. Os resultados obtidos nesse experimento indicaram que a solubilidade da pasta Calen associada ao PMCC não sofreu influência da ausência da cânfora. O pH das pastas analisadas foi semelhante, não mostrando relação com o PMC. A liberação de íons cálcio foi mais lenta nas pastas associadas ao PMC.

As mudanças de pH na dentina radicular de dentes humanos extraídos foram estudadas por Nerwich et al.⁴⁹ (1993), por um período de 4 semanas, quando do emprego do hidróxido de cálcio como curativo de demora. Os autores concluíram que os íons hidroxila podem requerer de 1 a 7 dias para alcançar a dentina radicular externa e que, no terço cervical, observaram-se os valores mais altos de pH, quando comparado com o terço apical.

Simon et al.⁶² (1995) avaliaram o pH e a liberação de íons cálcio de pastas de hidróxido de cálcio associadas a 04 diferentes veículos em diferentes tempos experimentais. As pastas de hidróxido de cálcio veiculadas em PMCC, Água destilada, Solução Salina e Propilenoglicol foram introduzidas em canais radiculares de dentes extraídos, os quais tiveram suas extremidades apical e coronária vedada. Com relação ao pH, as pastas de hidróxido de cálcio com PMCC e Água destilada foram as que forneceram os maiores valores de pH em todos os períodos experimentais. Aos 30 dias, todas as pastas apresentaram um gradual aumento no pH, sendo 7,69 para o Propilenoglicol, 7,87 para a solução salina, 8,17 para a Água destilada e 8,23 para o PMCC. Quando a liberação de cálcio foi estudada foi possível identificar os maiores valores para a pasta de hidróxido de cálcio veiculada em Água destilada em todo o período experimental. A pasta veiculada em PMCC permitiu uma baixa liberação de íons cálcio nos períodos iniciais, sendo superada pelas outras três associações em todo o período experimental.

Esberard et al.¹⁴ (1996) investigaram os valores de pH em diferentes intervalos de tempo, em dentes extraídos de humanos, após a realização do preparo biomecânico dos canais radiculares e preenchimento com diferentes pastas de hidróxido de cálcio (pasta aquosa de hidróxido de cálcio, hidróxido de cálcio associado ao PMCC e hidróxido de cálcio associado a metilcelulose-Pulpdent). Nos intervalos de 0 , 3, 7, 14, 21, 28, 45, 60, 90 e 120 dias efetuou-se a

leitura de pH. Na região cervical da raiz, o pH foi semelhante para os 3 materiais testados, com níveis superiores ao pH 9,0 em 3 dias. O hidróxido de cálcio associado ao PMCC produziu os maiores valores de pH em todos os intervalos de tempo, os quais foram significativamente maiores que os outros grupos. O pH na região apical apresentou-se diferente, sendo mais baixo para o hidróxido associado ao PMCC e hidróxido de cálcio associado a metilcelulose quando comparado ao grupo do hidróxido de cálcio associado à água destilada, até os 28 dias. Em 45 dias, o grupo do hidróxido de cálcio/PMCC elevou-se ao nível da pasta aquosa de hidróxido de cálcio, atingindo pH 9,8. No grupo do Pulpdent, o pH permaneceu abaixo dos outros grupos, não atingindo valor superior a 9,4.

Posteriormente, Esberard et al.¹⁵ (1996) realizaram um estudo, *in vitro*, no qual selecionaram 50 dentes de humanos, os quais tiveram seus canais preparados biomecanicamente, o magma dentinário removido e divididos em 5 grupos experimentais, tendo como fonte de variação o curativo de demora (Grupo A - Pasta aquosa de hidróxido de cálcio; Grupo B - Pasta Calen; Grupo C - Pasta Calen/PMCC; Grupo D - Pasta oleosa de hidróxido de cálcio e Grupo E - Canais radiculares vazios). Os valores de pH nas superfícies radiculares foram avaliados nos mesmos intervalos de tempo do estudo anterior. Os resultados mostraram que para o terço cervical e médio a pasta aquosa de hidróxido de cálcio, a pasta Calen com ou sem PMCC mostraram valores de pH crescentes até 45 dias, estabilizando-se a partir daí em valores um pouco acima de 10. Os resultados do terço apical em muito se assemelharam aos dois terços anteriores, porém o pH da pasta aquosa foi superior às pastas viscosas com ou sem PMCC. A pasta oleosa de hidróxido mostrou valores de pH superiores ao do grupo controle, sendo este estatisticamente significativo apenas no terço apical.

Fuss et al.¹⁸ (1996) mediram as variações no pH de várias pastas de hidróxido de cálcio colocadas no interior de canais radiculares por um período de

30 dias. Sessenta e dois dentes de humanos, extraídos e portadores de um canal foram endodonticamente preparados, com limas tipo K, até o número 60. Os dentes foram randomicamente separados em 6 grupos iguais e tiveram seus canais preenchidos com: Calxyl, Hydrocalcium, hidróxido de cálcio + água destilada, hidróxido de cálcio + PMCC, hidróxido de cálcio + anestésico local e hidróxido de cálcio + Solvidont. A abertura coronária foi selada com Cavidentin e os dentes foram armazenados individualmente em frascos contendo 10 mL de água destilada. Cinco frascos de cada grupo ficaram expostos ao ar em temperatura ambiente e os outros 5 frascos foram expostos ao dióxido de carbono em uma câmara fechada. O pH das pastas nos canais radiculares foi medido após 30 dias. Não existiram variações significantes ($p > 0,01$) no pH (média 13,11) das pastas de hidróxido de cálcio, colocadas antes e após a exposição ao ar. Entretanto, o pH das pastas nos dentes expostos ao dióxido de carbono foi significativamente reduzido (média 12,54). Não existiram diferenças no pH entre as 6 preparações.

Gomes et al.¹⁹ (1996) investigaram se os íons cálcio, de uma pasta de hidróxido de cálcio com solução salina introduzida em canais radiculares, difundem-se através da dentina até alcançar a superfície da raiz. Seis dentes foram acessados coronariamente e submetidos ao preparo biomecânico. Pós-preparo, o magma dentinário foi removido com o uso de ácido cítrico a 10%. O experimento foi dividido em 3 fases: dissolução, dissolução e difusão I e dissolução e difusão II. Na dissolução, cada dente sem hidróxido de cálcio foi selado no ápice e na cervical e armazenados em 700 mL de água deionizada até que as perdas de cálcio dos dentes em água fossem estabilizadas. Na segunda fase, cada canal foi obturado com uma pasta de hidróxido de cálcio + solução salina e o dente selado, tanto na porção apical como cervical, retornando para a solução de água deionizada. Na terceira fase, as amostras foram divididas em 3 grupos: Grupo 1-dentes com a pasta original, Grupo 2- a pasta existente foi diluída

com solução salina, Grupo 3- a pasta existente foi removida e uma pasta fresca foi introduzida. Os resultados desse estudo mostraram que a difusão de íons cálcio foi observada nos primeiros 16 dias, e que, após esse tempo, ocorreu a estabilização. Em todas as situações em que existia pasta de hidróxido de cálcio no interior do canal radicular ocorreu difusão dos íons cálcio.

Beltes et al.⁶ (1997) examinaram os valores de pH de alguns compostos à base de hidróxido de cálcio, usados como curativo de demora, por um período de 5 dias. Os materiais testados foram: Calasept, Calcicur, Calxyl blue, Calxyl red, Reogan rapid e Tempcanal. Os resultados mostraram que todos os materiais exibiram um pH alcalino. O Reogan rapid, Calxyl red e o Calcicur apresentaram maiores valores de pH ($p=0,05$). O pH final de cada composto correlacionou positivamente com a fração de massa de hidróxido de cálcio contida em cada um.

Vasconcellos et al.⁸¹ (2000) avaliaram o pH, em diferentes períodos de tempo, de pastas de hidróxido de cálcio veiculadas com anestésicos locais com vasoconstritor. Para cada grupo experimental, a mensuração do pH foi feita nos tempos de 10, 30, 60 e 120 minutos. O pH da pasta de hidróxido de cálcio veiculada com mepivacaína ou xilocaína estabilizou após 30 minutos. Todavia, para todos os tempos avaliados, a primeira associação atingiu pH maior, quando comparada com a segunda. O pH médio do grupo da Mepivacaína foi 12,76, enquanto o do grupo da xilocaína 12,40.

Zanini et al.⁸³ (2001) avaliaram, a partir de aglutinações de hidróxido de cálcio p.a. em três diferentes veículos (solução anestésica, polietilenoglicol 400 e soro fisiológico), inseridos à guisa de medicação intracanal em dentes humanos, as variações de pH que essas composições pudessem induzir na água destilada (pH 7,0) com o passar do tempo, considerando-se como via de liberação de íons cálcio e íons hidroxila para o meio, a própria dentina, destituída de cobertura de

cimento. Os autores observaram que variações de pH significantes ocorreram com maior incidência quando foi utilizado o polietilenoglicol, seguido do soro fisiológico e, nenhuma diferença foi notada no decorrer do tempo quando se utilizou a solução anestésica.

Maniglia et al.⁴² (2003) analisaram as concentrações de íons cálcio e pH em meio aquoso proporcionado por 04 diferentes substâncias propostas como medicação intracanal. Para tal, foram utilizados 100 dentes incisivos inferiores humanos, formando 04 grupos experimentais: hidróxido de cálcio p.a. e água destilada; hidróxido de cálcio adicionado ao Aderogil; hidróxido de cálcio adicionado ao Adeforte e a pasta base do cimento Life. A concentração de íons cálcio foi avaliada no instante inicial, e 1, 2, 7, 14, 17 e 33 dias após a colocação dos espécimes em meio aquoso. Os resultados deste trabalho indicaram que o hidróxido de cálcio associado à água destilada e à pasta base do cimento Life apresentaram, respectivamente, os maiores valores de dissociação iônica dentre as medicações testadas.

Rabelo⁵² (2003) avaliou, *in vitro*, a penetrabilidade, o pH e a liberação de íons cálcio de pastas à base de hidróxido de cálcio (Vitapex, Calasept, Calen Clorexidina (CHX) 1% e Calen), em canais de dentes decíduos e permanentes. A análise de pH e liberação de íons cálcio foi efetuada por meio de peagâmetro e espectrofotômetro de absorção atômica, respectivamente. As medidas das variações de cálcio e pH foram obtidas nos tempos experimentais de 2; 5; 8; 25,5; 31,5; 49,5; 55,5; 145,5; 217,5; 361,5; 505,5; 601,5; 721,5 horas. A pasta Calen CHX 1% foi a que melhor se comportou, frente à liberação de cálcio e à manutenção do pH alcalino em função do tempo. Na análise da penetrabilidade, um corante foi misturado as pastas, para evidenciar a penetração das mesmas na dentina. Os dentes foram cortados longitudinalmente no sentido vestibulo-lingual e avaliados, utilizando-se um perfilômetro com aumento de 20 vezes. A autora

concluiu que a pasta Calen CHX 1% foi a que apresentou o melhor resultado, seguido da pasta Calen para os dentes decíduos, enquanto para os dentes permanentes ambas apresentaram valores semelhantes, sendo melhores que a Vitapex e a Calasept.

Duarte et al.¹³ (2004) compararam, *in vitro*, o pH e a liberação de íons cálcio promovido pelo AH plus e pelo AH Plus modificado (contendo 5% ou 10 % de hidróxido de cálcio). O pH e a liberação de íons cálcio foram medidos com peagâmetro e por espectrofotometria de absorção atômica respectivamente, nos tempos experimentais 1, 2, 7, 14 e 30 dias. Um pH mais alcalino foi observado no AH Plus modificado quando comparado com o AH Plus puro. Com relação a liberação de íons cálcio foram observadas diferenças estatisticamente significantes em todos os períodos experimentais, entre os diferentes tipos de AH Plus. A adição de 5 e 10 % de hidróxido de cálcio favoreceu uma maior alcalinidade e liberação de íons cálcio.

Nesta breve revisão da literatura será possível perceber alguns estudos realizados no tecido conjuntivo subcutâneo de ratos, com diferentes materiais empregados em Endodontia, com o objetivo de avaliar a resposta inflamatória tecidual em diferentes períodos experimentais.

Em relação à ação biológica do hidróxido de cálcio, Mitchell & Shankwalker⁴³ (1958) analisaram o potencial osteogênico do hidróxido de cálcio e de outros materiais, por meio de implantes de cilindro no tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. Ao exame histopatológico, realizado a partir do décimo dia após o implante, observaram a presença de calcificações heterotópicas ao redor dos cilindros contendo hidróxido de cálcio.

Rasmussen & Mjör⁵³ (1971) avaliaram a eficiência do hidróxido de cálcio como indutor ectópico de osso, com auxílio de implantes subcutâneos ou intraperitoneais em ratos. Decorridas 6 a 8 semanas, no grupo em que o hidróxido de cálcio esteve em contato direto com o tecido, ocorreu hiperplasia acentuada no tecido conjuntivo, com a presença de numerosas células gigantes multinucleadas e algumas ilhas basófilas irregulares e positivas ao método de *Von Kossa*. No grupo em que o hidróxido de cálcio foi separado do tecido por filtro de "Millipore", não observaram nenhuma reação significativa e acreditaram que o hidróxido de cálcio pode criar um meio favorável à formação de tecido, para que o processo natural de cura seja acelerado.

Na análise histológica do coto pulpar e dos tecidos periapicais frente a algumas pastas empregadas na obturação de canais radiculares, em dentes anteriores de cães, Holland et al.²³ (1971) relataram que o hidróxido de cálcio melhor favoreceu a preservação da vitalidade do coto pulpar e deposição de cimento.

Leonardo & Holland³³ (1974) avaliaram, histologicamente, o processo de reparo dos tecidos periapicais de dentes humanos, após cobertura do coto pulpar com hidróxido de cálcio e obturação do restante do canal radicular com cimento de Rickert e cones de guta-percha. Relataram que o hidróxido de cálcio preservou a vitalidade do coto pulpar e permitiu a deposição cementária.

Souza et al.⁷⁰ (1977) analisaram as reações histológicas decorrentes do implante de algumas pastas de hidróxido de cálcio contidas em tubos de dentina

humana, no tecido conjuntivo de ratos. Os períodos experimentais foram 2, 7, 15, 30, 60 e 180 dias e os tubos apresentavam aberturas com dois diâmetros nas suas extremidades. As pastas testadas Calxyl, Pulpdent, DFL, hidróxido de cálcio + iodofórmio, hidróxido de cálcio + PMCC, Calvital e Pasta A (hidróxido de cálcio – 4 g; óxido de zinco – 2 g; propilenoglicol – 5 ml) estimularam a deposição de barreira de tecido mineralizado nas extremidades dos tubos, isolando o material do tecido conjuntivo adjacente.

A influência do hidróxido de cálcio na reparação tecidual do coto pulpar pós pulpectomia em dentes de cães foi estudada por Holland et al.²⁴ (1978). Segundo os autores, o processo de reparo caracterizou-se, na sua fase inicial (2-7 dias), pela deposição de sais de cálcio (birrefringentes ou não a luz polarizada), proliferações celulares e poucas células inflamatórias. Posteriormente (15-30 dias) as células inflamatórias desapareceram e iniciou-se a aposição de cimento. A ocorrência do selamento biológico foi freqüente quando do emprego do hidróxido de cálcio, sendo, porém, impedida em presença de detritos na superfície do coto pulpar.

Leal et al.³² (1988) estudaram a biocompatibilidade dos cimentos endodônticos Calciobiotic Root Canal Sealer(CRCS), Sealapex, N-Rickert e Fill Canal. Os cimentos foram espatulados, colocados no interior de tubos de polietileno e implantados no tecido subcutâneo de rato, pelos períodos de 7, 21, e 60 dias. De um modo geral, os materiais implantados mostraram-se irritantes, provocando reações inflamatórias de diferentes intensidades. Assim, no período inicial, o Sealapex e o N-Rickert exibiram uma reação tecidual moderada, enquanto no CRCS e Fill Canal, essa reação foi intensa. Na fase final, houve diminuição do processo inflamatório, sendo que com os cimentos Sealapex,

CRCS, e N-Rickert, havia discreta reação tecidual, enquanto que no grupo do Fill Canal foi observado uma reação mais acentuada.

Com o objetivo de avaliar a biocompatibilidade de cimentos endodônticos à base de hidróxido de cálcio, Zmener et al.⁸⁴ (1988) compararam a resposta do Sealapex e CRCS, após implante no subcutâneo de ratos. Tubos de silicone foram preenchidos com os cimentos e implantados no tecido subcutâneo dorsal de 30 ratos. Os animais foram sacrificados após 7, 30 e 90 dias. Os resultados demonstraram graus diferentes de reação tecidual, entre os materiais testados, revelando um tecido granulomatoso, com numerosas células gigantes multinucleadas de corpo estranho, macrófagos com material em seu citoplasma, bem como numerosos fibroblastos e vasos sanguíneos, em contato com o Sealapex. Esta reação aumentou progressivamente após 30 e 90 dias. Com relação ao CRCS, foi observada inflamação aguda nos tecidos em contato com este material, a qual diminuiu em severidade nos períodos maiores.

Zmener et al.⁸⁵(1990) analisaram a resposta tecidual de um cimento experimental com hidróxido de cálcio após implante em tecido conjuntivo subcutâneo de rato. O material em estudo consistiu do Sealapex sem dióxido de titânio, retirado de sua fórmula original em função da provável relação de sua presença com a reação de corpo estranho causada pelo cimento. O material foi colocado em tubos de silicone e implantado no tecido subcutâneo de 30 ratos. Os animais foram sacrificados aos 7, 30 e 90 dias, para análise histométrica e qualitativa. O exame microscópico demonstrou diferentes graus de reação dos tecidos ao material testado. Tecido granulomatoso contendo numerosas células gigantes de corpo estranho e macrófagos contendo partículas em seu citoplasma foram detectados em contato com o material experimental. Fibroblastos e vasos

recém-formados também foram observados. Estas reações aumentaram, progressivamente, aos 30 e 90 dias de observação.

Souza et al.⁷² (1991) realizaram análise histológica em tecido subcutâneo de ratos, para avaliar o comportamento biológico do óxido de zinco e eugenol associado ou não ao hidróxido de cálcio. Nos grupos experimentais nos quais tubos de dentina foram obturados apenas com cimento de óxido de zinco e eugenol, não houve invaginação de tecido conjuntivo para o interior do espaço vazio de 1 mm deixado nas suas extremidades. Nos grupos do hidróxido de cálcio isolado ou associado ao óxido de zinco e eugenol, observaram ocorrência de deposição de tecido calcificado junto a extremidade dos tubos.

A avaliação da resposta inflamatória, provocada pelas pastas de hidróxido de cálcio Calen, Calen/PMCC, Calen/PMC e Calasept foi realizada por Nélon Filho⁴⁷ (1996). No tecido conjuntivo de 120 camundongos isogênicos foi injetado 0,1 ml de suspensão das respectivas pastas, e decorridos os períodos de 6, 12 e 24 horas e 2, 3, 5, 7 e 15 dias, obtiveram-se os cortes histológicos. A pasta Calen promoveu intensa congestão vascular no período de 6 horas, com redução no período de 2 dias. Os neutrófilos aumentaram no período de 6 a 12 horas, e diminuíram progressivamente nos períodos seguintes, até os 7 dias. As células mononucleares aumentaram no período de 6 a 12 horas, diminuindo posteriormente, nos períodos de 7 e 15 dias. Ocorreu necrose superficial extensa, a qual durou até as 24 horas, a qual não foi mais observada aos 2 dias. Para a pasta Calen/PMCC, a congestão vascular, o edema e a área de necrose, foram mais duradouros, comparativamente a pasta Calen. Para a pasta Calen/PMC observou-se maior grau de irritação aos tecidos em relação à pasta Calen/PMCC.

No entanto, a resposta tecidual desenvolvida pela pasta Calasept, foi a mais agressiva, com processo de reparo menos evoluído.

Silva et al.⁶⁰ (1997) avaliaram a resposta inflamatória dos cimentos endodônticos Sealapex, CRCS, Apexit e Sealer 26 em tecido subcutâneo e cavidade peritoneal de ratos. Os períodos de análise no tecido subcutâneo foram 2, 4, 8 e 16 dias, com intensa resposta inflamatória em todos os cimentos no período inicial, embora mais marcante nos cimentos CRCS e Apexit. Em alguns casos, houve necrose tecidual, especialmente em resposta ao Sealer 26 e Sealapex. No período intermediário, diminuição no número de neutrófilos foi observada, especialmente para o Sealapex, seguido pelo CRCS, Apexit e Sealer 26. Um progressivo aumento no número de células mononucleares foi determinado, variando de acordo com o cimento testado. O último período caracterizou-se por pequeno número de neutrófilos e uma intensa reação granulomatosa. A presença de necrose foi marcante em resposta ao Apexit, observada em menores proporções em resposta ao Sealer 26 e CRCS.

Kolokouris et al.³¹ (1998) avaliaram a biocompatibilidade do Apexit e do Pulp Canal Sealer quando da implantação de tubos de teflon preenchidos com os esses materiais, no tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. Os implantes foram removidos 5, 15, 60 e 120 dias após, e os tecidos fixados e preparados para a avaliação microscópica. Severa reação inflamatória com diferentes extensões de necrose foi observada com o uso do Apexit nos períodos de 5 e 15 dias. A intensidade da reação diminuiu após 60 dias, e esta diminuição continuou progressivamente até os 120 dias. Moderada para severa foi a inflamação no grupo do Pulp Canal Sealer, associada às áreas de necrose já aos 5 dias. A intensidade da reação inflamatória diminuiu aos 15, 60 e 120 dias, mas

permaneceu significativamente maior do que o Apexit durante os períodos de observação.

Seguindo esse modelo experimental, Holland et al.²⁷ (1999) compararam a resposta histológica produzida pelo Agregado Trióxido Mineral (MTA) com a causada pelo hidróxido de cálcio. Para isso, tubos de dentina com 7mm de comprimento foram preparados e preenchidos com os diferentes materiais, sendo implantados, no subcutâneo dorsal de quarenta ratos. Em cada rato, foram implantados um tubo com MTA e outro com hidróxido de cálcio. Metade dos animais foram mortos após sete dias, e a outra metade trinta dias depois. Foi feita a dissecação da região onde o tubo havia sido implantado e as peças foram preparadas para análise histológica. Os resultados mostraram que ambos os materiais estimularam a deposição de tecido duro e causaram respostas inflamatórias leves no tecido conjuntivo, sendo considerados biocompatíveis.

Holland et al.²⁸ (2001) avaliaram a resposta tecidual, em tecido subcutâneo de ratos, ao implante de tubos de dentina preenchidos com MTA, cimento de Portland e hidróxido de cálcio. Os resultados mostraram que os mecanismos de ação do MTA e do cimento de Portland foram muito próximos entre si e similares ao do hidróxido de cálcio.

Figueiredo et al.¹⁷ (2001) propuseram a submucosa da cavidade bucal como local ideal para a avaliação da resposta tecidual de diferentes cimentos endodônticos. Na região dorsal existem alguns inconvenientes. Além da presença de pelos que precisam ser removidos antes do implante, é uma região de fácil acesso a outros animais que poderiam lesar e contaminar o sítio cirúrgico. Tais problemas não ocorrem na submucosa, já que os materiais testados ficam

protegidos e as estruturas da submucosa não interferem na visualização histológica dos tecidos. Seguindo essa linha de raciocínio, estudos que avaliam a biocompatibilidade do MTA podem ser desenvolvidos, aplicando essa metodologia.

O estudo conduzido por Holland et al.²⁹ (2002) foi para observar a reação do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos ao implante de tubos de dentina que estavam preenchidos com MTA, Sealapex, CRCS, Sealer 26 e o Sealer Plus. Os animais foram sacrificados após 7 e 30 dias, e as amostras preparadas para a análise histológica. As secções foram examinadas com luz polarizada após coloração de acordo com a técnica de *Von Kossa* para cálcio. Na abertura dos tubos existiam grânulos *Von Kossa* positivos que eram birrefringentes à luz polarizada. Próximo a estas granulações, existia tecido irregular, como uma ponte, que era *Von Kossa* positivo. As paredes de dentina dos tubos exibiam uma estrutura altamente birrefringente à luz polarizada. Estes resultados foram observados em todos os materiais estudados exceto no CRCS, o qual não mostrava nenhum tipo de estrutura mineralizada.

Trindade⁷⁹ (2003) avaliou a resposta tecidual, em tecido subcutâneo de ratos, ao implante de tubos de polietileno contendo MTA, cimento de Portland, cimento de Portland acrescido de 20% de óxido de bismuto e cimento de Portland acrescido de 30 % de óxido de bismuto, nos tempos experimentais de 7, 15 e 30 dias. Decorrido o período experimental, foi realizada a biópsia excisional da região dos implantes, sendo procedida análise histopatológica. Foram considerados os seguintes elementos: polimorfonucleares neutrófilos, polimorfonucleares eosinófilos, infiltrado linfoplasmocitário, formação de abscesso, macrófagos e gigantócitos e condensação fibrosa. A análise dos resultados mostrou não haver

diferenças significativas entre as respostas teciduais, para os diferentes materiais testados, nos três tempos experimentais. Todos os materiais mostraram significativa redução no grau inflamatório ao longo do tempo.

Semenoff⁵⁶ (2003) analisou as respostas do tecido submucoso de ratos Wistar frente a presença das seguintes substâncias: mistura de clorexidina a 2% e hidróxido de cálcio, solução de clorexidina, mistura de hidróxido de cálcio p.a. e água destilada e água destilada. Para tanto, foi inserido, em 30 espécimes, um cilindro de polietileno, contendo um dos materiais, na região do sulco gengivo-labial em cada um dos quatro quadrantes de cada animal. Os tempos experimentais foram de 7, 15 e 30 dias, sendo distribuídos 10 animais para cada intervalo. Após o processamento histológico as lâminas foram classificadas através de escores de acordo com os eventos inflamatórios encontrados e posicionadas em uma escala, de acordo com a severidade da doença encontrada. A autora não encontrou diferenças estatísticas na reação inflamatória quanto aos materiais, entretanto observou-se que todos os materiais tiveram seu inflamatórios diminuídos no decorrer do tempo.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi avaliar as propriedades físico-químicas de liberação de íons cálcio e pH, de três pastas à base de hidróxido de cálcio, a saber: UltraCal- XS, Calcicur e pasta aquosa de hidróxido de cálcio. Ainda, foi objetivo avaliar a resposta tecidual das mesmas em tecido conjuntivo subcutâneo, do dorso de ratos Wistar, nos períodos de 7 e 30 dias.

4 MATERIAL E MÉTODO

Previamente à sua execução, o presente projeto foi submetido à apreciação pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Animais, da Universidade Luterana do Brasil, com termo de avaliação e aprovação 2004-009 A (Anexo 6).

4.1 ANÁLISE QUÍMICA DAS PASTAS À BASE DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO – ANÁLISE DOS ÍONS CÁLCIO E pH

4.1.1- Escolha das pastas e Pesagem das amostras

Para a execução deste experimento foram empregadas três pastas à base de hidróxido de cálcio, a saber: UltraCal XS (Ultradent Product, Inc. – USA), Calcicur (VOCO- Cuxhaven- Germany) e uma pasta de hidróxido de cálcio confeccionada a partir da mistura de 1,2 g de hidróxido de cálcio p.a. (Riedel De Haën AG, Seelze, Hannover - Alemanha) e 1,0 mL de água destilada (Farmácia Escola da ULBRA, Canoas – RS - Brasil) e chamada de controle. Os fabricantes da pasta UltraCal XS e Calcicur não informaram as formulações das mesmas. A partir da embalagem da pasta Calcicur obteve-se a informação de que a mesma se trata de uma pasta aquosa.

Foi pesado 0,206g de cada pasta, no interior de recipientes plásticos de 120 mL, com tampa, separadamente, utilizando balança analítica de precisão (Adventurer – Ohaus Corp. USA). Cada amostra foi feita em triplicata, resultando em 3 recipientes para cada pasta. A estas massas adicionou-se um volume de 100,0 mL de água ultra-pura (Milli-Q - Milipore – São Paulo - Brasil). Decorridos aproximadamente 30 minutos do contato entre a água e as pastas, procedeu-se à

agitação manual com um bastão de vidro, aguardando-se 2 minutos para que ocorresse a sedimentação das partículas em solução.

4.1.2- Liberação de Ions Cálcio

A análise do cálcio contido nas pastas testadas foi realizada utilizando a espectrofotometria por absorção atômica, empregando-se o espectrofotômetro, modelo 4000 (Perkin-Elmer Corporation – Connecticut - USA).

As concentrações de cálcio das amostras foram calculadas por meio da comparação com uma curva padrão de calibração, utilizando soluções padrões de concentrações de cálcio de 1,0, 2,0, 3,0 4,0, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0, 9,0 10,0, 15,0, 20 e 25 ppm (Calcium Standard Solution – Merck – Darmstadt - Germany), em água ultra-pura.

A cada leitura foram retiradas 100,0 μ L das amostras com pipeta automática e diluídos em 2 mL de cloreto de potássio 0,15% (Reagen – Rio de Janeiro – RJ - Brasil). Com o objetivo de permitir uma melhor atomização do cálcio, foi acrescentado a essa diluição 250 μ L de ácido nítrico p.a.(Merck – Darmstadt – Germany). O cálcio presente nas amostras foi processado na forma de aerossol, originado pela aspiração de 2 mL da solução, em chama, proveniente do gás acetileno e óxido nitroso, a uma temperatura aproximada de 2900°C. Os átomos de cálcio no estado fundamental, quando excitados, absorvem a radiação emitida pela lâmpada de cátodo oco (comprimento de onda 422,7 nm e corrente de 20 mA), específica para átomos de cálcio e magnésio, através de uma abertura de fenda de 0,7 nm e comprimento de queimador de 5,0 cm. As variações na quantidade de cálcio liberada, no decorrer dos períodos experimentais de 1 hora,

1, 3, 7, 15, 30, 45 e 60 dias, foram impressas, a partir de um programa instalado no computador acoplado ao espectrofotômetro (Anexo 2).

4.1.3- Análise dos Íons Hidroxila (pH)

Decorrido o tempo de repouso de 2 minutos, as medidas de pH foram efetuadas diretamente no interior dos recipientes contendo as soluções. Para esse procedimento foi mergulhado nas soluções um eletrodo de vidro acoplado a um peagâmetro (pH-meter CG 840 – Schott - Germany), previamente calibrado com soluções tampão de pH 7,0 e 4,0 (Synth Ltda – Diadema – SP - Brasil). Entre cada leitura, o eletrodo foi lavado abundantemente com água destilada e secado com papel absorvente. Quando o eletrodo não estava sendo utilizado, o mesmo permanecia em contato com a solução tampão.

As mensurações do pH no decorrer dos tempos experimentais de 1 hora, 1, 3, 7, 15, 30, 45 e 60 dias foram anotadas em uma ficha (Anexo 3).

Ao final de cada tempo experimental, uma cânula acoplada a um cilindro de gás Nitrogênio foi inserida no interior de cada recipiente, sem contatar com superfície da solução, e um fluxo baixo, porém contínuo, foi acionado durante 20 segundos. Em seguida os frascos foram fechados com tampa e mantidos em estufa com temperatura constante de 36,5°C até o próximo período do experimento.

4.2 BIOCMPATIBILIDADE DAS PASTAS DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO

4.2.1- Aquisição dos Animais

Para o estudo utilizaram-se dezoito ratos da raça Wistar, do sexo masculino, com peso aproximado de 200g e idade em torno de 60 dias. Previamente ao estudo, os ratos foram examinados por um médico-veterinário para assegurar o bom estado de saúde destes animais.

4.2.2 - Amostragem

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos de nove espécimes, de acordo com os tempos experimentais: Grupo1- 7 dias e Grupo 2- 30 dias, e separados randomicamente em seis caixas. Isso determinou o número de três animais em cada uma delas. Em seguida, foram realizadas marcas na cauda dos animais, com canetas para tecido, de maneira a identificá-los individualmente.

4.2.3 - Preparo dos Corpos de Prova

Neste estudo foram empregados 72 tubos de polietileno, obtidos a partir de uma Scalp Vein 19G Atóxico (Terumo – Medical Corporation – Tóquio - Japan), previamente autoclavados, com 5mm de comprimento e 1,3mm de diâmetro interno, com as extremidades abertas. Vinte e quatro tubos foram preenchidos com cada uma das pastas: UltraCal XS, Calcicur, e pasta de hidróxido de cálcio p.a. veiculada em água destilada.

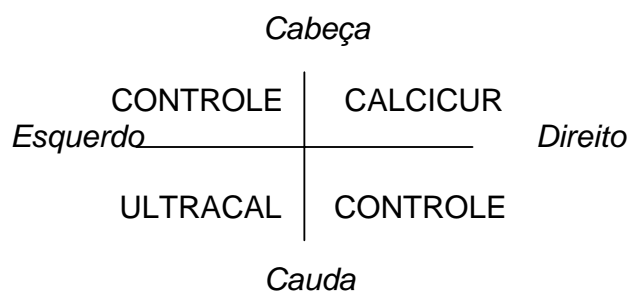
Todo o instrumental utilizado foi previamente autoclavado. A pasta UltraCal XS e a pasta Calcicur vêm acondicionadas em seringas próprias onde foram acopladas pontas dispensadoras, que acompanham os conjuntos.

A pasta de hidróxido de cálcio p.a. veiculada em água destilada foi inserida nos tubos de polietileno, com o auxílio de uma seringa plástica com agulha descartável (BD – Juiz de Fora - MG – Brasil). A Pasta UltraCal XS, a pasta Calcicur e a pasta confeccionada foram inseridas por meio da injeção lenta no interior de cada tubo. Considerou-se o preenchimento do tubo completo quando foi observado extravasamento da pasta pela extremidade oposta àquela na qual o material estava sendo inserido. Esses procedimentos foram realizados minutos antes do início da anestesia dos animais.

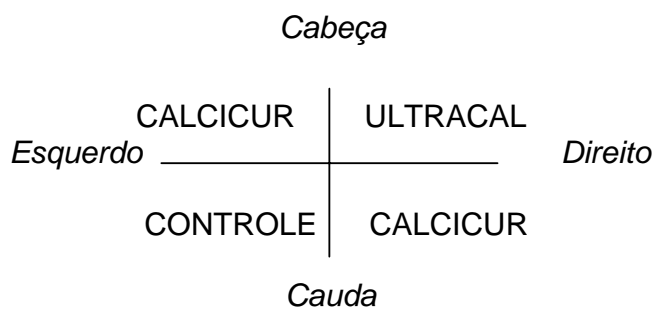
Para o primeiro e segundo período experimental (7 e 30 dias), foram implantados, no tecido subcutâneo do dorso, 04 tubos de polietileno. A escolha do quadrante onde foi inserido cada tubo seguiu uma randomização estratificada, ou seja, foram construídos 03 diagramas, sendo 01 destes para cada 06 animais, conforme é possível observar na ilustração. Os animais marcados na orelha, com o auxílio de uma pinça perfuradora de dique de borracha, com 1 ou 2 furos, segundo os diagramas 1, 2 e 3, permitiram posterior mapeamento dos materiais implantados para cada animal (TRINDADE⁷⁸, 2003).

Diagrama 1- ratos nº 1, 4, 7, 10, 13,16,

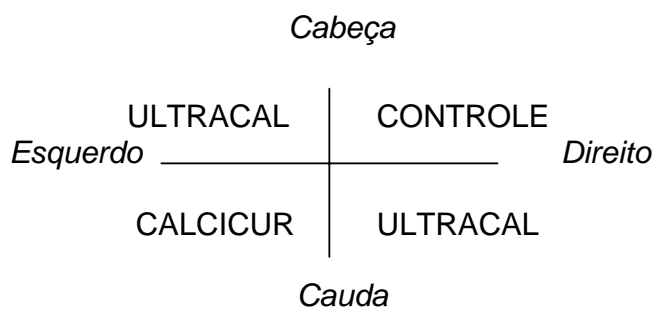
*marcados com um furo na orelha direita.

**Diagrama 2- ratos nº 2, 5, 8, 11, 14,17,**

*marcados com um furo na orelha esquerda

**Diagrama 3- ratos nº 3, 6, 9, 12, 15,18**

* marcados com um furo na orelha direita e um furo na orelha esquerda



4.2.4 - Procedimentos Clínicos

O procedimento de anestesia bem como a morte dos animais foi executada por um médico-veterinário.

4.2.4.1-Anestesia dos ratos

Para a realização do presente experimento os animais foram submetidos à anestesia geral. O protocolo anestésico utilizado era composto por um fármaco dissociativo (Vetanarcol - quetamina 5% - König - Argentina) administrado concomitantemente a um fármaco miorreaxante (Kensol - xilazina 2% - König - Argentina). Os dois fármacos nas concentrações supracitadas foram misturados na proporção de 1:1 (ml) em uma seringa. Desta mistura 0,2 ml /100g de animal foram administrados por via intramuscular, em cada animal, promovendo anestesia geral por um período de 50 a 80 minutos. Com este volume de administração, a dose utilizada foi de 5mg/ 100 g de quetamina e 2 mg/ 100 gl de xilazina.

4.2.4.2- Implante no tecido subcutâneo

Após o procedimento de anestesia, foram realizadas a tricotomia com máquina para tosa veterinária, Golden-A5 (Oster Professional Products, McMinville – Tenesse – EUA) e lâmina Oster A5 número 40 (Oster Professional Products, McMinville – Tenesse - EUA), e anti-sepsia com álcool iodado, da região dorsal.

Com cabo (EDLO Ltda – RS - Brasil) e lâmina de bisturi nº 15 (SOLIDOR-Ltda. SP - Brasil) e considerando o longo eixo do dorso, foram realizadas, em

cada espécime, duas incisões verticais, de aproximadamente 15 mm, distando uma da outra 30 mm. O tecido subcutâneo foi divulsionado obliquamente em direção cervical na incisão superior e da mesma forma em direção caudal na incisão inferior. Com tesoura de ponta romba e em uma extensão de 20 mm confeccionou-se duas lojas cirúrgicas, uma a cada lado de cada incisão, num total de 04 lojas cirúrgicas. Teve-se o cuidado para que não ocorresse a comunicação entre elas, evitando que os implantes se deslocassem. Com o auxílio de uma pinça curva, os tubos preenchidos com os materiais foram introduzidos, um em cada loja cirúrgica. Concluído este procedimento, as incisões foram suturadas em um único ponto com fio de mononylon 4-0 (BIODINÂMICA – Pr - Brasil).

Os ratos foram mantidos em gaiolas com alimentação sólida (ração) e água *ad libitum*, reproduzindo a mesma condição a que eles estavam habituados.

4.2.4.3- Morte dos Animais

Sete dias após a realização do procedimento clínico, 08 ratos, foram anestesiados de maneira igual à citada anteriormente e, após, mortos através de injeção intracardíaca com cloreto de potássio. Cabe salientar que houve a perda de 02 animais durante o período do experimento, um do grupo de 7 dias e outro do grupo de 30 dias. Os 08 ratos restantes foram mortos trinta dias após o procedimento clínico de inserção dos tubos de polietileno.

Logo após a morte, os animais foram colocados em formol 10% tamponado onde permaneceram até que se fizesse a dissecação da região correspondente ao local do implante.

4.2.5- Obtenção das peças histológicas

Com cabo e lâmina de bisturi nº 15, realizou-se a excisão da região dos implantes, com suficiente margem de segurança. As peças cirúrgicas foram colocadas em recipientes devidamente identificados, contendo formol a 10% tamponado, até o momento do processamento histológico.

4.2.6- Processamento Histológico

O processamento histológico foi realizado no laboratório de histopatologia da Universidade Luterana do Brasil. No momento da inclusão das peças em parafina, teve-se o cuidado de manter voltado para baixo o tecido que estava em contato com o material implantado. Com auxílio de um micrótomo (Leica RM 2025 Nussloch - Alemanha), foram realizados cinco cortes histológicos semi-seriados com espessura de 5 µm em cada um dos blocos. Esses cortes foram corados com Hematoxilina de Harris e Eosina Alcoólica.

4.2.7- Análise dos Resultados

As lâminas histológicas foram analisadas por um único examinador, cegado em relação ao estudo, em microscópio óptico (ZEISS), com 100, 200 e 400 vezes de aumento.

Para cada uma das amostras do estudo, foi escolhida a lâmina mais representativa do quadro histopatológico. A mesma proporcionou a visualização do tecido adjacente de, no mínimo, uma das extremidades do tubo.

As lâminas foram analisadas qualitativamente observando-se a presença de células como neutrófilos, linfócitos e plasmócitos, eosinófilos, macrófagos e gigantócitos, bem como de formação fibrosa e abscesso (Figueiredo et al.¹⁷, 2001).

Os eventos celulares foram classificados de acordo com os seguintes escores:

- 1 – Ausente (quando as células inflamatórias estavam ausentes ou se encontraram no interior de vasos sanguíneos)
- 2 – Leve (quando as células estavam presentes de maneira esparsa ou em grupamentos muito reduzidos)
- 3 – Moderado (elementos celulares presentes, porém sem dominar o campo microscópico)
- 4 - Intenso (elementos celulares presentes sob a forma de infiltrado próximo ao material)

A formação fibrosa foi classificada de acordo com os seguintes escores:

- 1 – Ausência de fibras colágenas envolvendo a área que continha o material em estudo
- 2 – Presença de fina camada de fibras colágenas envolvendo o material em estudo
- 3 – Presença de camada espessa de fibras colágenas envolvendo a área que continha o material em estudo

O abscesso, caracterizado pela presença de neutrófilos mortos (piócitos) em uma área fracamente corada no campo, foi classificado de acordo com os seguintes escores:

- 1 – Ausência de abscesso
- 2 – Presença de abscesso em contato com o local que continha o material
- 3 – Presença de abscesso atingindo áreas mais distantes, do que a do local que continha o material

4.2.8- Análise Estatística

Para analisar o pH e liberação de cálcio foram calculadas estatísticas descritivas baseadas na média e desvio-padrão. Em seguida, os dados foram analisados por Análise de Variância - 1via (ANOVA) utilizando medidas relacionadas com os valores basais, mínimos, máximos e delta (basal – final) e *Post Hoc* de Tukey, para as situações que envolviam tempo de acompanhamento. Para comparar os eventos celulares nos períodos de 7 e 30 dias, de forma independente, foi utilizada a Análise de Variância – 1 via. Na comparação dos materiais, tendo como fonte de variação o tempo, foi empregada a Análise da Variância para medidas repetidas. Para confirmar os níveis de significâncias, obtidos com essa análise paramétrica, em se tratando de escores, um teste não paramétrico (Teste de Wilcoxon) foi utilizado. O nível de significância foi de $\alpha = 5\%$ e os dados foram analisados com o auxílio do Programa SPSS Versão 11.

5 RESULTADOS

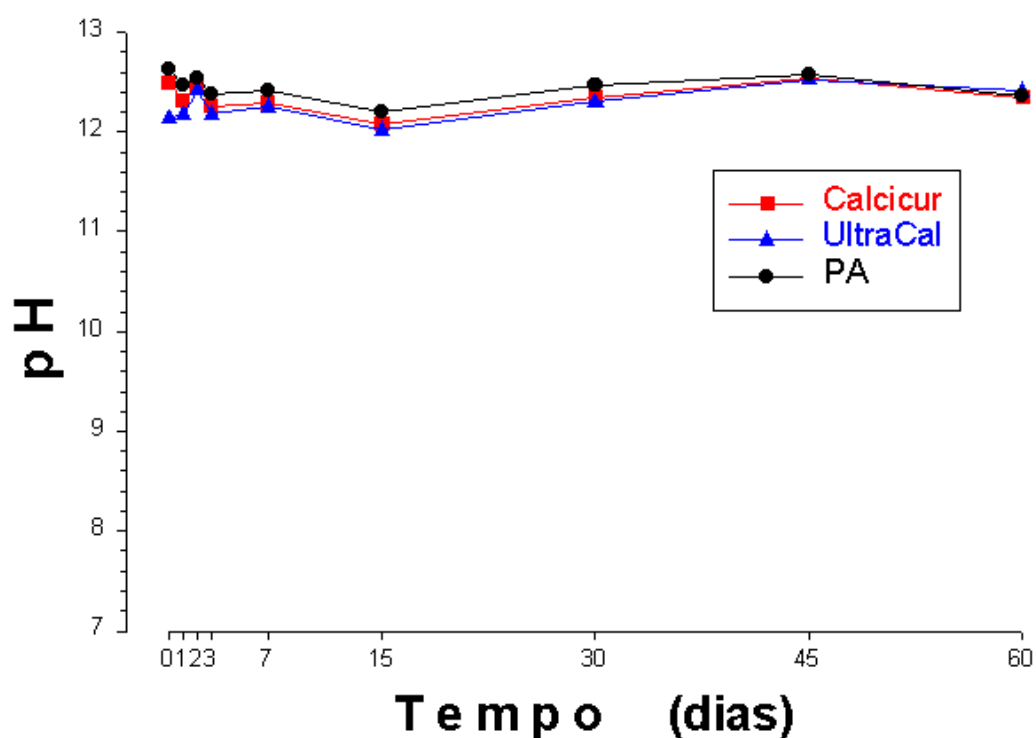
Os valores de pH inicial (basal), mínimo, máximo e quando da comparação dos valores final e inicial (delta), após o emprego da Análise da Variância – 1 via mostrou diferenças significativas entre o pH das pastas estudadas (Tabela 1).

Tabela 1- Média e desvio padrão do pH, das pastas de hidróxido de cálcio nos diferentes tempos experimentais.

	Calcicur Média Desvio n=3	UltraCal Média Desvio n=3	Controle Média Desvio n=3	Valores p
1 hora	12,49 ±0,06	12,14 ±0,05	12,62 ±0,01	< 0,001
1 dia	12,32 ±0,05	12,17 ±0,02	12,48 ± 0,01	-
2 dias	12,47 ±0,01	12,42 ±0,03	12,54 ±0,06	-
3 dias	12,26 ±0,03	12,18 ±0,01	12,37 ±0,01	-
7 dias	12,29 ±0,03	12,25 ±0,01	12,42 ±0,02	-
15 dias	12,08 ±0,02	12,02 ±0,03	12,20 ±0,02	-
30 dias	12,35 ±0,03	12,30 ±0,03	12,46 ±0,02	-
45 dias	12,54 ±0,06	12,52 ±0,03	12,57 ±0,06	-
60 dias	12,35 ±0,10	12,41 ±0,03	12,36 ±0,08	-
Mínimo	12,08 ±0,06	12,02 ±0,05	12,20 ±0,02	= 0,001
Máximo	12,54 ±0,06	12,52 ±0,03	12,62 ±0,01	= 0,035
Delta	-0,14 ±0,06	0,27 ±0,04	-0,26 ±0,10	< 0,001

A análise do Gráfico 1 e Tabela 1, permite observar uma linearidade nos valores médios de pH, ao longo do período experimental, exceção feita ao 15º dia onde foi possível perceber uma ligeira diminuição. Além disso, foram verificados maiores valores médios de pH para a pasta controle, até 45 dias, seguida pela pasta Calcicur e UltraCal XS respectivamente. Aos 60 dias esses valores foram ligeiramente mais elevados na pasta UltraCal XS.

Gráfico 1- pH das pastas de hidróxido de cálcio em função do tempo



A observação da Tabela 2 permite visualizar a média de liberação de cálcio em mg/L, das 3 pastas de hidróxido de cálcio testadas, em todos os tempos experimentais, a partir dos valores de absorbância obtidos na espectrofotometria de absorção atômica (anexo 2).

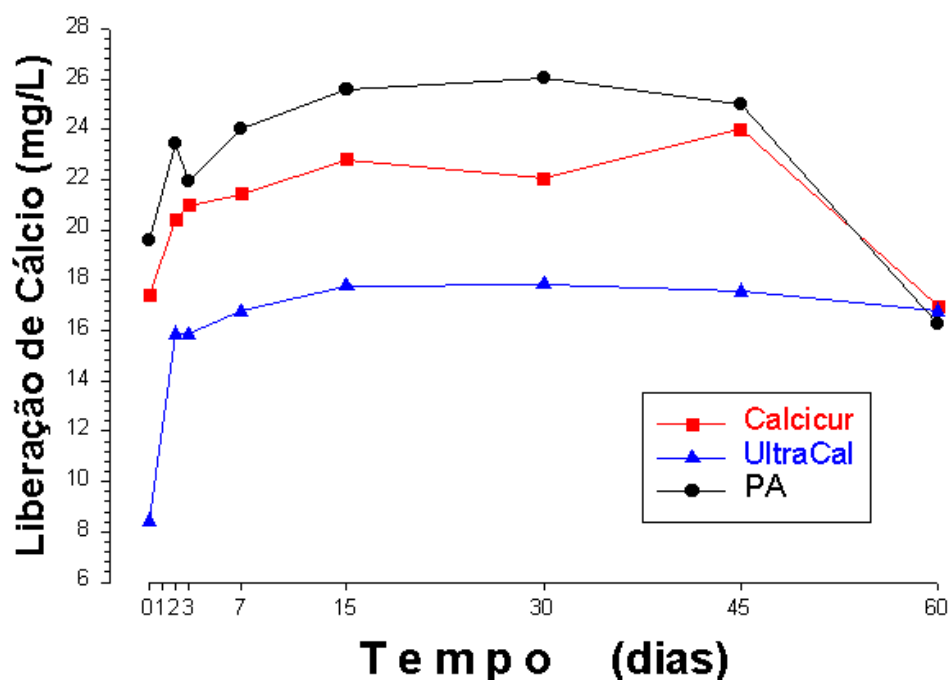
O emprego da Análise da Variância -1 via mostrou diferenças significativas entre as médias de liberação de cálcio, nas pastas de hidróxido de cálcio estudadas (Tabela 2), quando foram levadas em consideração as medidas de liberação de cálcio no tempo inicial (basal), quando se obteve valores mínimos, máximos e quando da comparação dos valores final e inicial (delta).

Tabela 2- Média e Desvio Padrão da liberação de cálcio, das pastas, no tempo inicial, em valores mínimo, máximo e delta.

	Calcicur	UltraCal	Controle	p
1 hora	17,39 1,46	8,43 1,18	19,61 1,26	< 0,001
2 dias	20,42	15,86	23,43	-
3 dias	20,97	15,84	21,95	-
7 dias	21,44	16,75	24,04	-
15 dias	22,81	17,79	25,57	-
30 dias	22,05	17,84	26,05	-
45 dias	24,01	17,56	25,00	-
60 dias	16,96	16,77	16,25	-
Mínimo	16,19 ±2,49	8,43 ±1,18	19,60 ±2,08	= 0,005
Máximo	24,77 ± 2,90	18,54 ±1,15	26,85 ±1,11	= 0,004
Delta	- 0,43 ±2,18	8,33 ±1,03	- 3,36 ±3,91	= 0,004

O Gráfico 2 mostra o comportamento das 3 pastas de hidróxido de cálcio estudadas, em termos de liberação de cálcio em mg/L, onde é perceptível o aumento na quantidade de cálcio ionizável das 3 pastas nos primeiros 30 dias, sendo os valores mais elevados, observados na pasta controle e na pasta Calcicur. Aos 45 dias, a pasta Calcicur apresentou aumento progressivo do valor de cálcio liberado, enquanto a pasta UltraCal e controle mostraram uma pequena redução do mesmo. Aos 60 dias, foi observada uma significativa queda no cálcio ionizável das pastas Calcicur e controle e uma ligeira diminuição junto à pasta UltraCal, de tal forma que nesse momento as 3 pastas apresentaram liberações de cálcio semelhantes.

Gráfico 2- Médias de liberação de cálcio, das pastas de hidróxido de cálcio ao longo do tempo.



Os eventos celulares no período de 7 dias estão representados na tabela 3. Conforme pode-se observar nos valores de “P”, dos eventos celulares estudados, não foi possível observar diferenças estatísticas significantes entre os 3 materiais testados. Na pasta UltraCal, os neutrófilos se apresentaram de forma esparsa, denotando resposta inflamatória leve. Na pasta Calcicur e controle os neutrófilos tiveram comportamento semelhante, estando presentes, porém sem dominar o campo microscópio. Por outro lado, linfócitos e plasmócitos apareceram sob a forma de infiltrado, em um número significativo de vezes, próximo as três pastas testadas. Do mesmo modo, os macrófagos também tenderam a dominar o campo microscópio, localizando-se próximo ao material, nas lâminas examinadas. A formação fibrosa foi presente sob a forma de uma camada fina de fibras colágenas envolvendo os materiais em estudo. Áreas de abscesso estiveram ausentes na grande maioria das amostras e quando da sua presença essas se limitaram às proximidades do local de contato com o material.

Tabela 3- Médias e desvios padrões dos escores, dos eventos celulares no período de 7 dias

7 DIAS	CALCICUR	ULTRACAL	CONTROLE	P
Eventos Celulares	n=10 média e desvio	n=10 média e desvio	n=10 média e desvio	-
NEUTRÓFILOS	2,70 ±0,82	2,30 ±0,67	2,80 ±0,79	= 0,32
LINF/PLASM	3,70 ±0,67	3,70 ±0,48	3,70 ±0,48	= 1,00
EOSINÓFILOS	1,00 0,00	1,10 ±0,32	1,10 ±0,32	= 0,61
MACRÓFAGOS	3,80 ±0,42	3,70 ±0,48	3,60 ±0,70	= 0,72
COND.FIBROSA	2,10 ±0,32	2,40 ±0,52	2,30 ±0,48	= 0,33
ABSCESSO	1,10 ±0,32	1,10 ±0,32	1,40 ±0,52	= 0,16

Aos trinta dias de contato dos materiais com o tecido subcutâneo tornou-se difícil observar neutrófilos no campo microscópico (Tabela 4). Embora estatisticamente não significativa, a presença de linfócitos e plasmócitos deu-se de forma esparsa ou em grupamentos muito reduzidos para a pasta UltraCal e com tendência à presença desses elementos celulares, porém sem dominar o campo microscópio, nas pastas Calcicur e controle. Nesse período experimental foi percebida uma diminuição nos escores dos macrófagos quando comparado com o grupo de sete dias, com a tendência dos resultados se agruparem em torno do escore 2. A formação fibrosa apresentou-se com características de uma camada fina de fibras colágenas para as três pastas de hidróxido de cálcio testadas. Em nenhuma lâmina foi possível verificar áreas de abscesso.

Tabela 4- Médias e desvios padrões dos escores, dos eventos celulares no período de 30dias.

30 DIAS	CALCICUR	ULTRACAL	CONTROLE	P
Eventos Celulares	n=10 média e desvio	n=10 média e desvio	n=10 média e desvio	-
NEUTRÓFILOS	1,10 ±0,32	1,00 0,00	1,10 ±0,32	0,61
LINF/PLASM	2,60 ±0,70	2,10 ±0,32	2,50 ±0,71	0,17
EOSINÓFILOS	1,00 0,00	1,00 0,00	1,00 0,00	-
MACRÓFAGOS	2,50 ±0,53	2,20 ±0,63	2,40 ±0,52	0,49
FORM.FIBROSA	2,00 0,00	2,00 0,00	2,00 0,00	-
ABSCESSO	1,00 0,00	1,00 0,00	1,00 0,00	-

Os eventos celulares relacionados aos neutrófilos, linfócitos/plasmócitos, macrófagos, condensação fibrosa e formação de abscesso, mostraram que nas 3 pastas de hidróxido de cálcio ocorreu uma redução dos escores no período de 7 para 30 dias. Somente para a presença de eosinófilos não ocorreu modificação nos escores (Tabela 5).

Tabela 5- Valores de P, através da ANOVA – 2 vias e Wilcoxon, dos eventos celulares, quando da comparação das pastas de hidróxido de cálcio entre 7 e 30 dias.

ELEMENTOS CELULARES	ANOVA – 2 VIAS		TESTE DE WILCOXON
	Tempo: P	Interação: P	P
Neutrófilos	< 0,001	= 0,50	< 0,001
Linfócitos/Plasmócitos	< 0,001	= 0,42	< 0,001
Eosinófilos	= 0,17	= 0,61	= 0,50
Macrófagos/Gigantócitos	< 0,001	= 0,71	< 0,001
Formação Fibrosa	= 0,003	= 0,33	= 0,008
Abscesso	= 0,01	= 0,17	= 0,03

As figuras de número 1 a 18 representam as imagens histopatológicas das 03 pastas de hidróxido de cálcio, nos 2 períodos experimentais em magnificações de 100, 200 e 400 X.

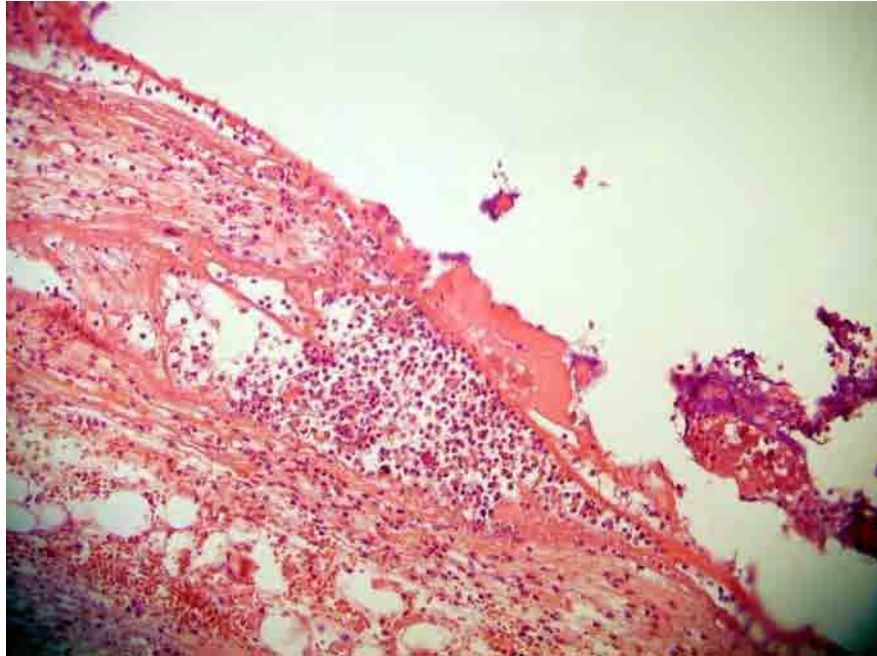


Figura 1-(Pasta controle 7 dias) 100X- Observar a presença de neutrófilos próximo à área de contato com o material

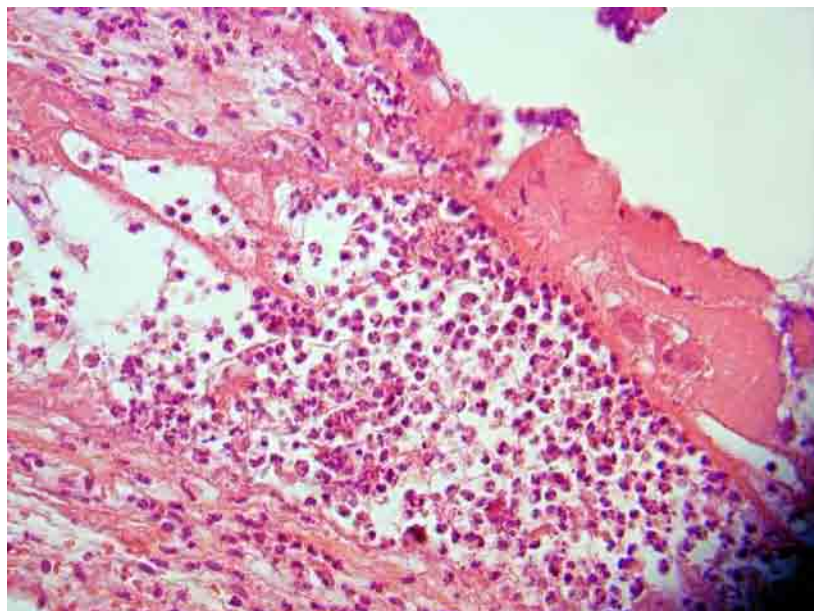


Figura 2- (Pasta controle 7 dias) 200X- Observar a presença de neutrófilos próximo à área de contato com o material

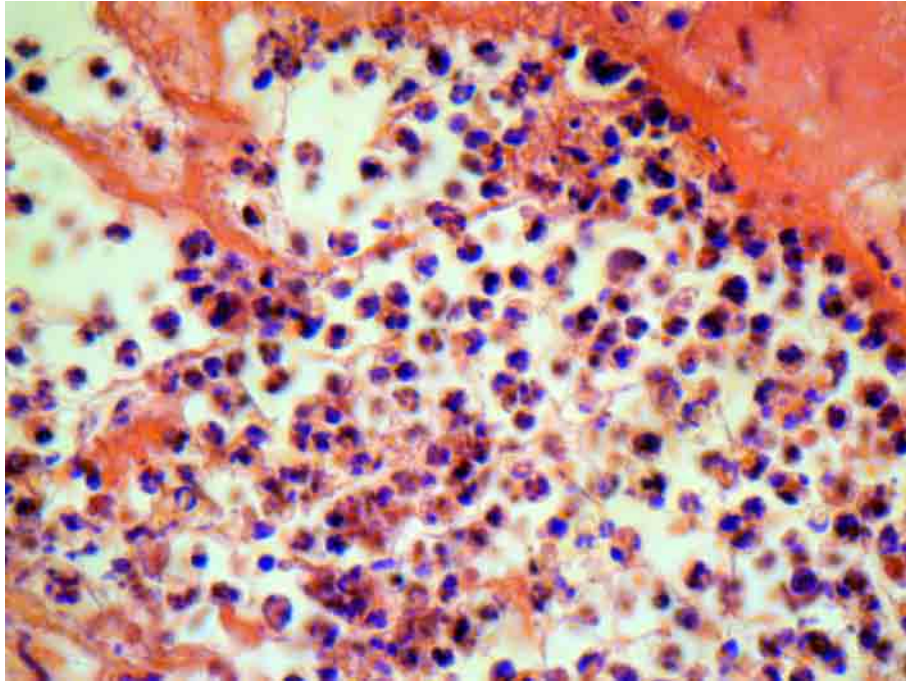


Figura 3- (Pasta controle 7 dias) 400X. Observar a presença de neutrófilos próximo à área de contato com o material

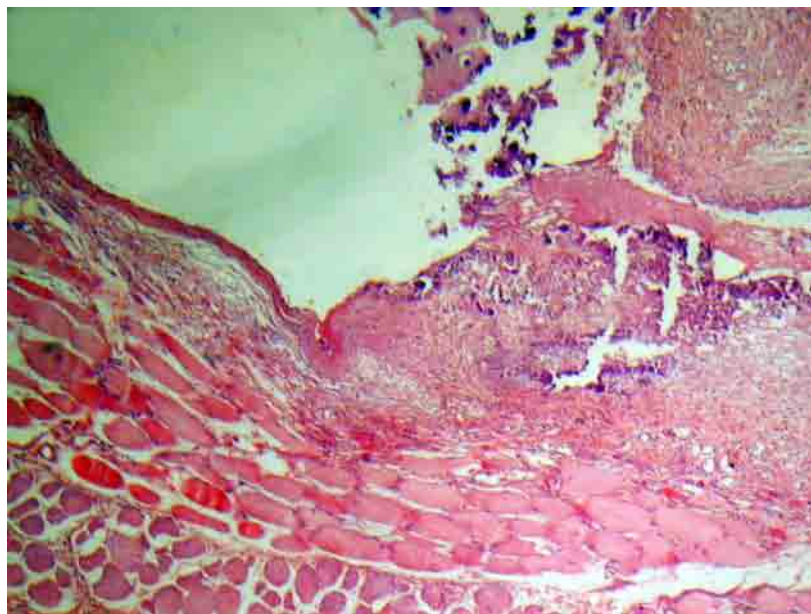


Figura 4- (Pasta Calcicur 7 dias) 100X- Observar infiltrado próximo ao material, bem como a presença de vasos neoformados

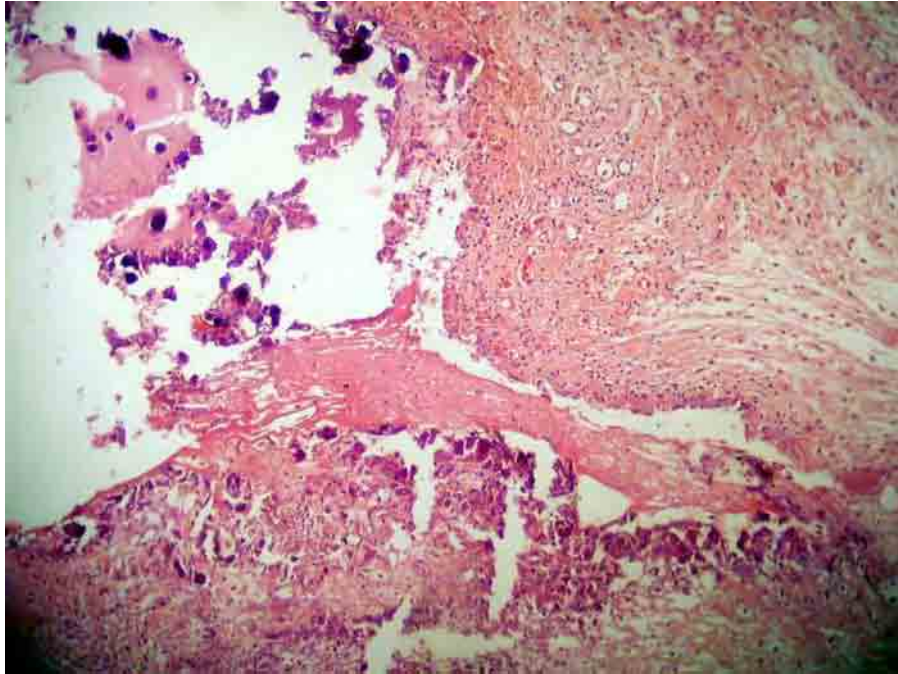


Figura 5- (Calcicur 7 dias) 200X- Observar infiltrado celular próximo ao material, bem como a presença de vasos neoformados

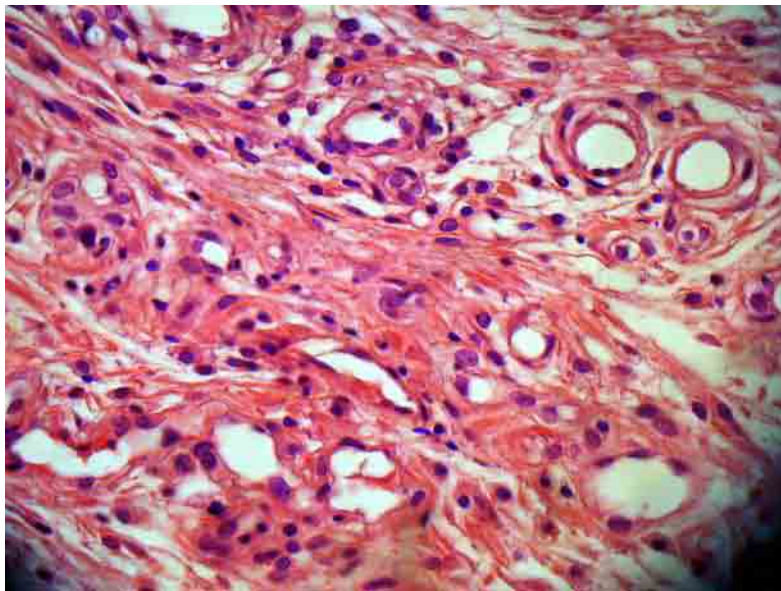


Figura 6- (Calcicur 7 dias) 400X - Presença de macrófagos e gigantócitos, infiltrado linfo-plasmocitário e vasos neoformados próximo à área de formação fibrosa

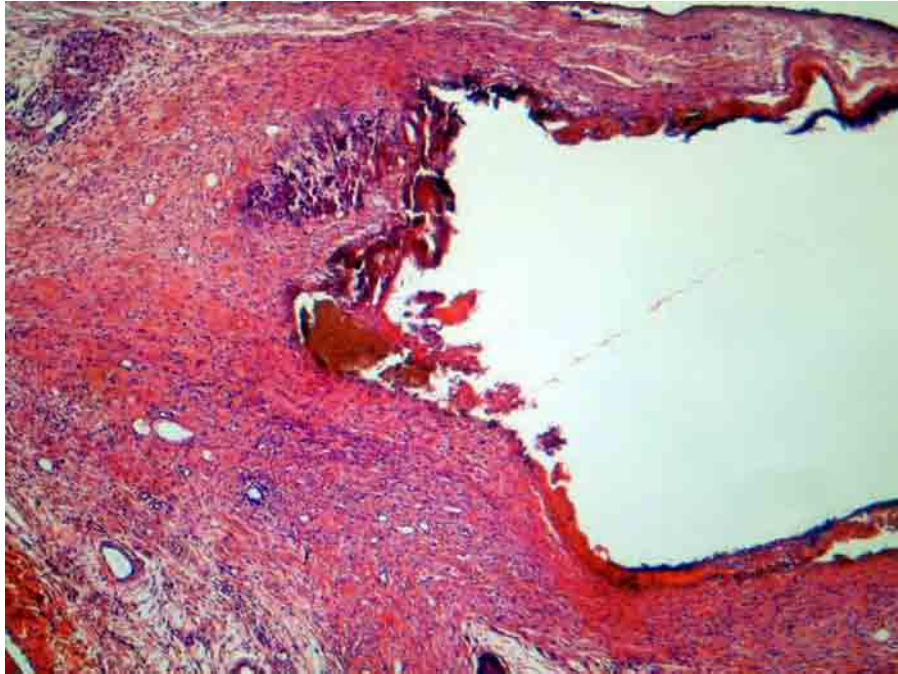


Figura 7- (Pasta UltraCal 7 dias) 100X – Elementos celulares em todo o campo ao redor do material

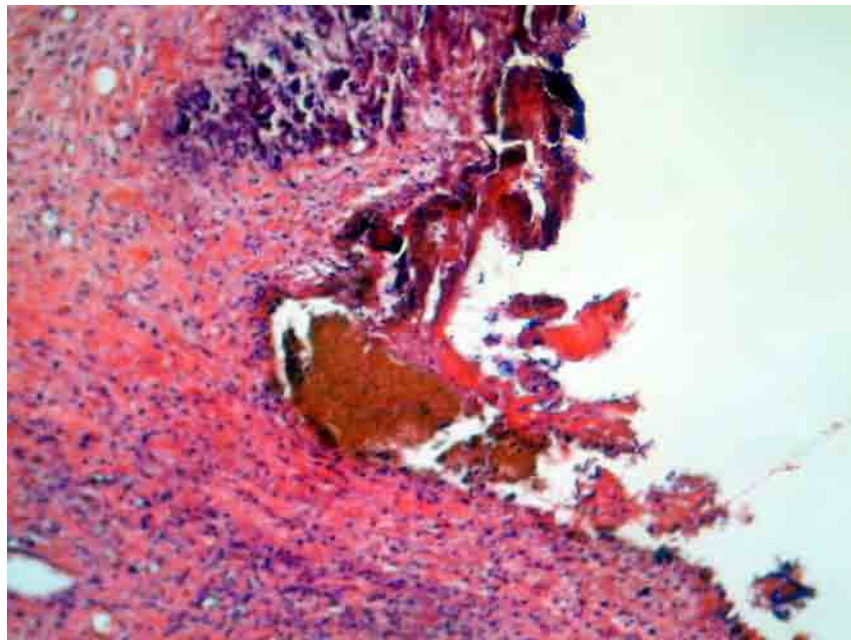


Figura 8- (Pasta UltraCal 7 dias) 200X - Infiltrado linfoplasmocitário (em todo o campo ao redor do material)

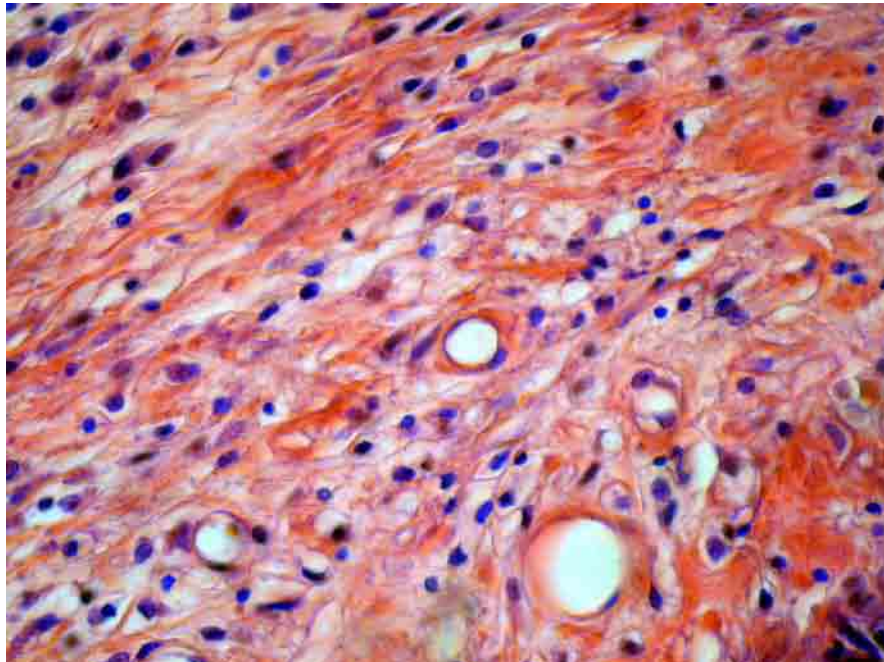


Figura 9- (Pasta UltraCal 7 dias) 400X- Presença de macrófagos, linfócitos e plasmócitos, bem como vasos neoformados próximo à trama fibrosa

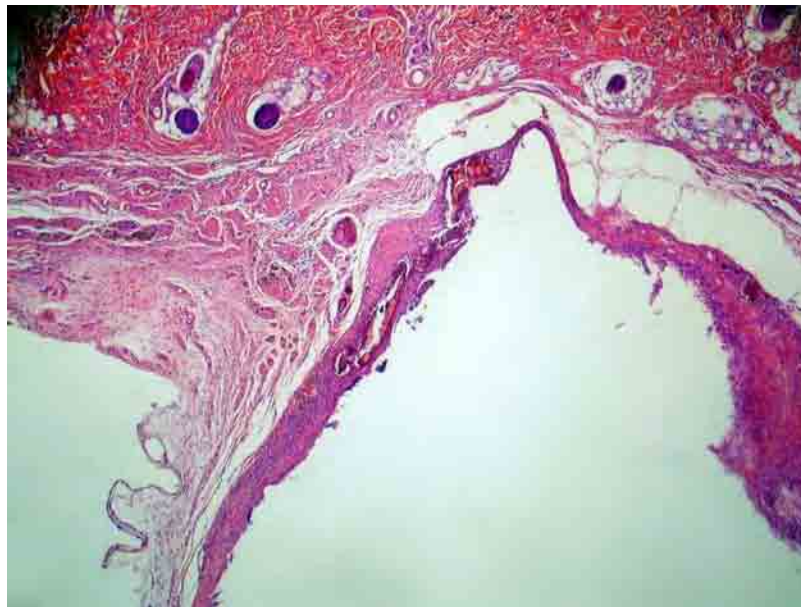


Figura 10- (Pasta controle 30 dias) 100X- Formação fibrosa fina e tecido normal ao redor do material

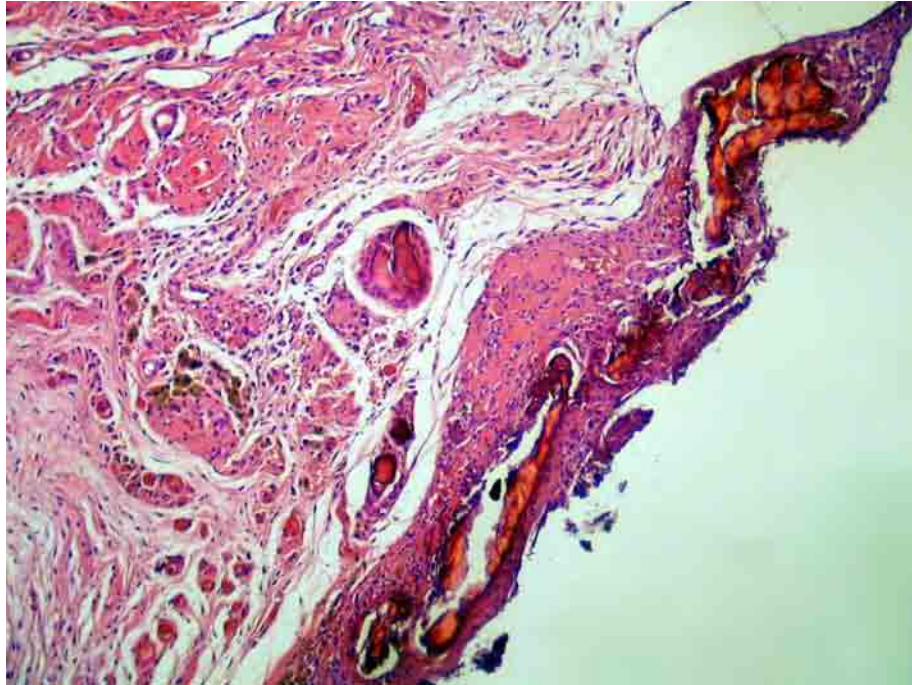


Figura 11- (Pasta controle 30 dias) 200X - Macrófagos e gigantócitos próximo à fina camada fibrosa

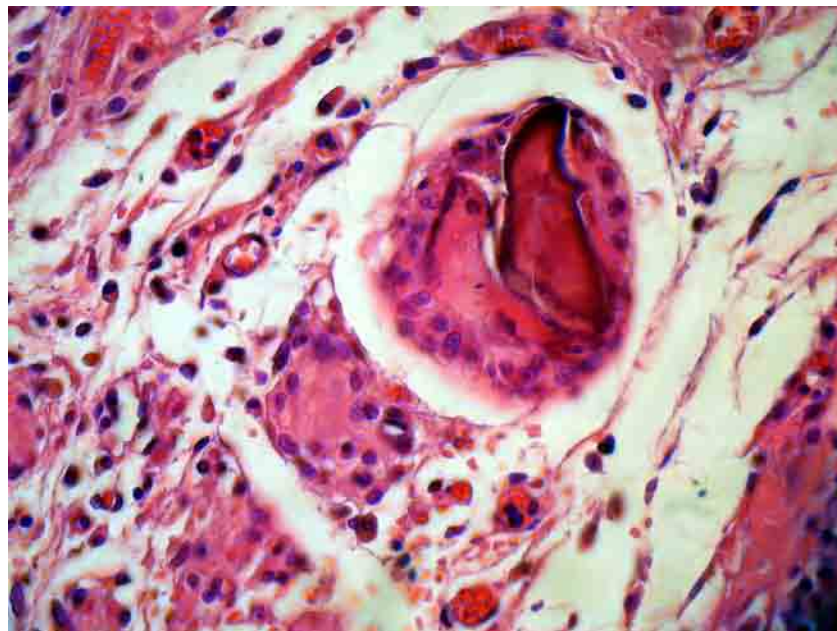


Figura 12- (Pasta controle 30 dias) 400X – Observar os gigantócitos envolvendo o material (granuloma do tipo corpo estranho)

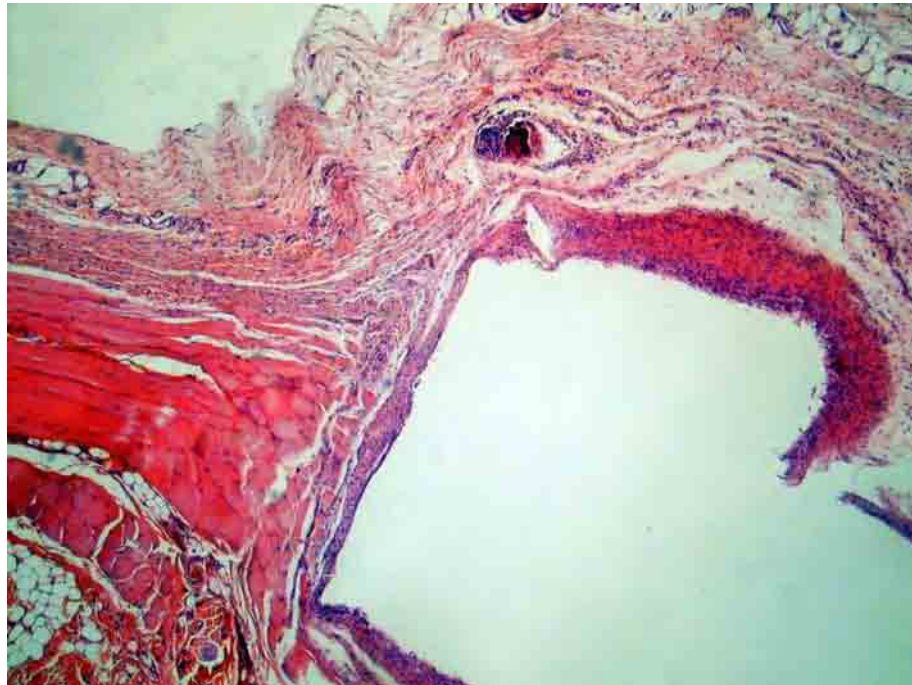


Figura 13- (Pasta Calcicur 30 dias) 100X. Fina camada fibrosa e poucas células inflamatórias

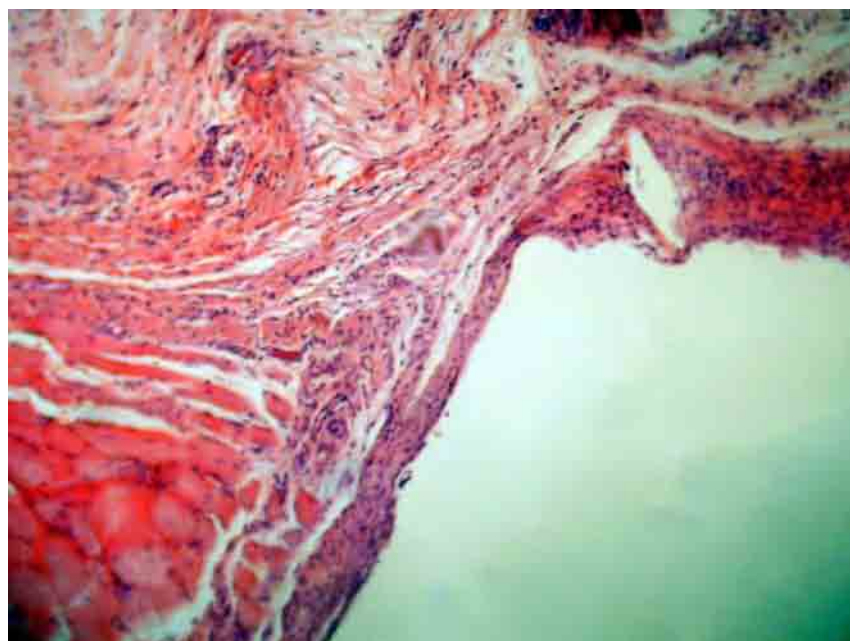


Figura 14- (Pasta Calcicur 30 dias) 200X - Fina camada fibrosa e poucas células inflamatórias

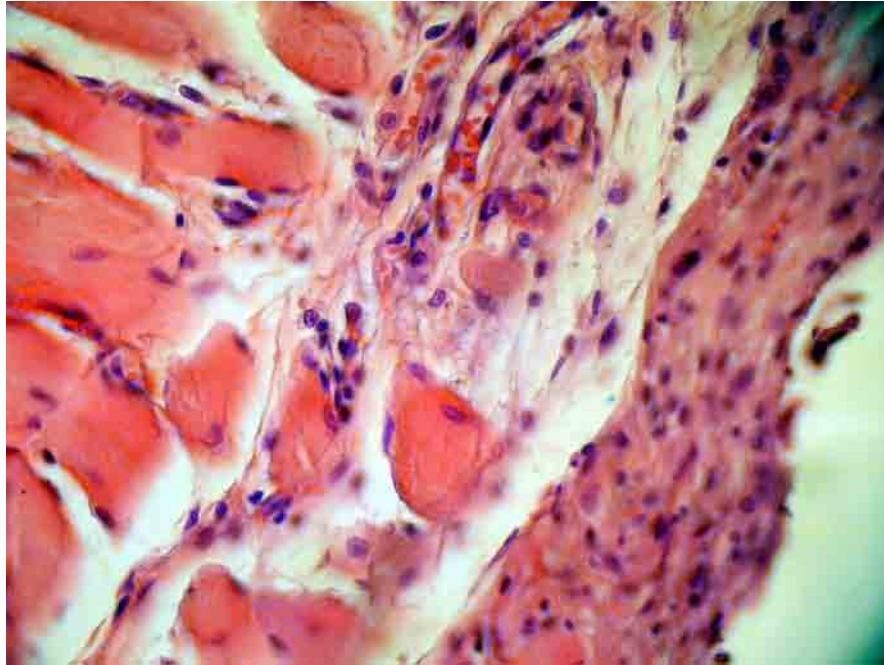


Figura 15- (Pasta Calcicur 30 dias) 400X- Fina camada fibrosa e poucas células inflamatórias

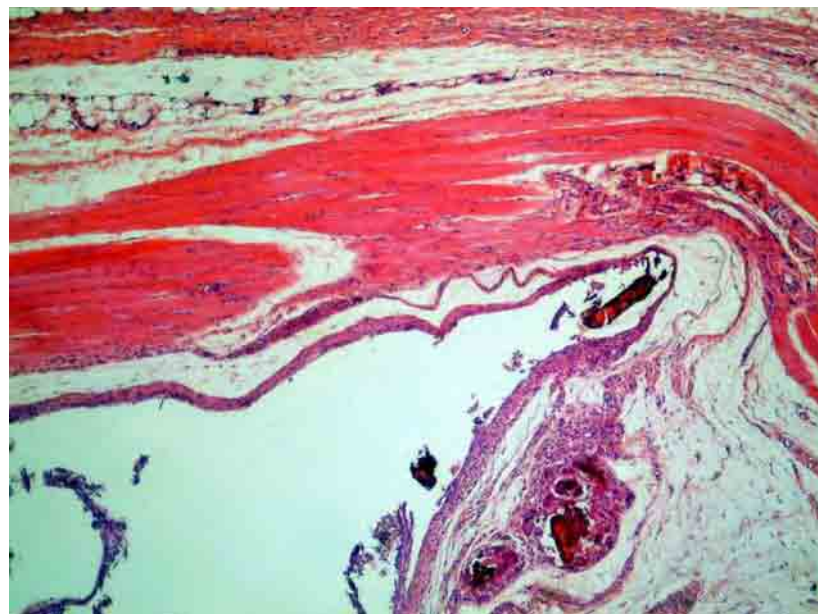


Figura 16- (Pasta UltraCal 30 dias) 100X- Fina camada fibrosa e poucas células inflamatórias

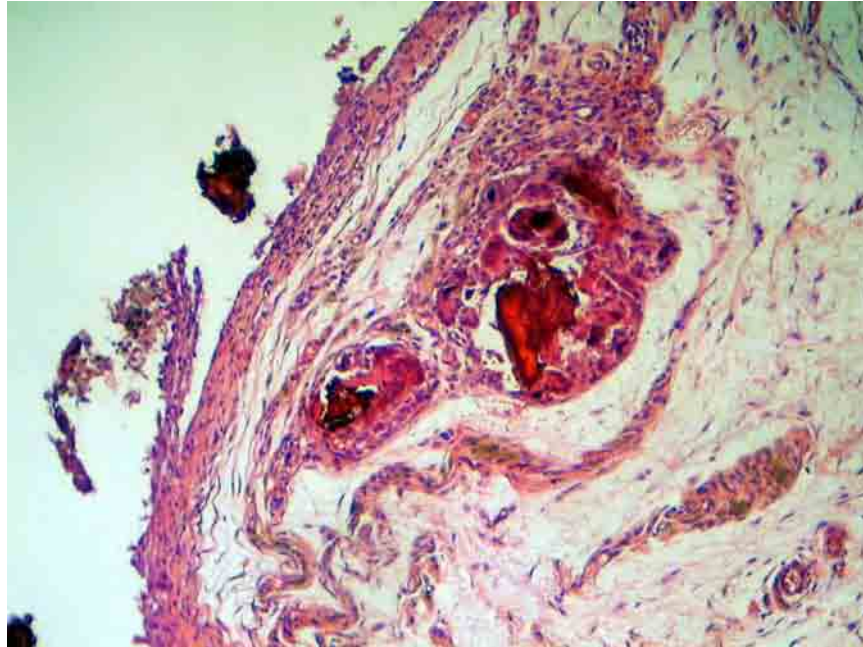


Figura 17- (Pasta UltraCal 30 dias) 200X– Fina camada fibrosa e alguns gigantócitos

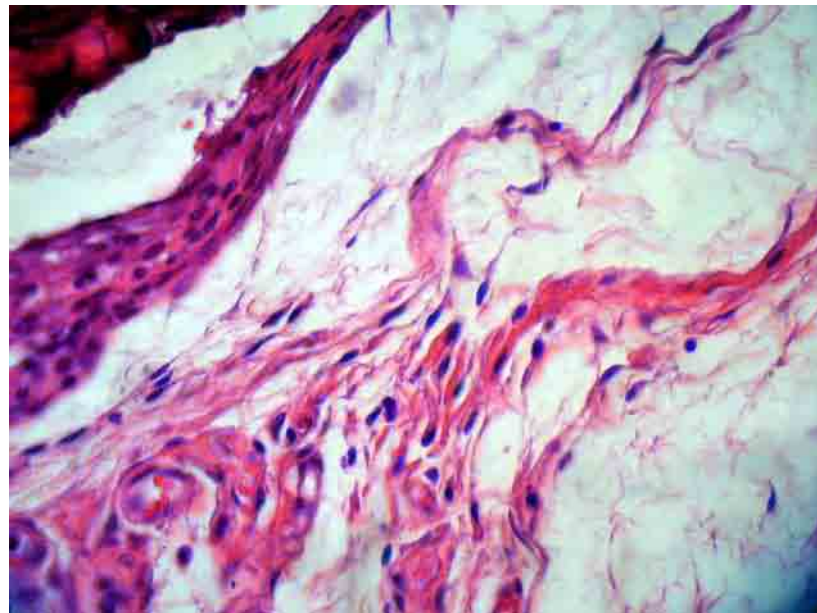


Figura 18- (Pasta UltraCal 30 dias) 400X – Fibroblastos e fibrócitos próximos ao material (boa reação tecidual)

6 DISCUSSÃO

Com o aprimoramento das técnicas de cultura a partir da década de 70, passou-se a ter conhecimento, de que as infecções presentes no sistema de canais radiculares são mistas, com prevalência de microrganismos anaeróbios gram-negativos (Sundqvist⁷³, 1976, Möller et al.⁴⁴, 1981, Fabricius et al.¹⁶, 1982). Este conhecimento tornou-se importante, pois a determinação da microbiota predominante dos canais radiculares infectados é um fator indispensável para uma correta escolha do curativo de demora.

Ao preparo biomecânico têm-se atribuído a modelagem e desinfecção dos canais radiculares. Entretanto, os restos pulpares e os microrganismos poderão estar fora do alcance da mais sofisticada técnica de preparo do canal, localizando-se em todo o endodonto, regiões muitas vezes inatingíveis pelos instrumentos e substâncias químicas irrigadoras (Byström e Sundqvist⁸, 1981, Haapasalo & Orstavik²¹, 1987, Nair et al.⁴⁶, 1990, Assed⁴, 1993).

A busca incessante de uma medicação intracanal ideal, com o objetivo de eliminar os microrganismos sobreviventes ao preparo biomecânico foi um objetivo da fase da “simplificação endodôntica” (Leonardo³⁴, 1991) que teve o seu início na década de 40 e seu término no começo da década de 80 no século passado. A partir da década de 70 o hidróxido cálcio passou a ser amplamente empregado e difundido como curativo de demora para os dentes que apresentavam necrose pulpar e reação periapical crônica, devido ao seu elevado poder bactericida e sua biocompatibilidade. Desde então, esse material tem sido utilizado durante décadas, persistindo como o medicamento mais empregado para essas situações e constituindo atualmente a conduta mais aceita para o combate aos microrganismos que escaparam do preparo biomecânico (Torneck et al.⁷⁷, 1973, Heithersay²², 1975).

A dissociação iônica do hidróxido de cálcio em íons cálcio e hidroxila e a ação desses sobre os tecidos e microrganismos tem justificado o seu efeito mineralizador e antibacteriano. Desta forma, como o pH do hidróxido de cálcio é cerca de 12,4, depreende-se que a maioria das espécies bacterianas, isoladas de canais radiculares infectados, é sensível aos seus efeitos, sendo eliminadas em curto período de tempo, quando em contato direto com essa substância (Siqueira Jr & Lopes⁶⁴, 1999).

Uma das tentativas de explicação do real mecanismo de ação dos íons hidroxila do hidróxido de cálcio sobre os microrganismos tem se voltado para o efeito do pH sobre as membranas celulares e bacterianas (Siqueira Jr & Lopes⁶⁴, 1999)

A difusão dos íons hidroxila através da dentina, e a conseqüente alteração de pH na mesma, tem sido alvo de alguns estudos na literatura (TRONSTAD et al.⁸⁰, 1981, Nerwich et al.⁴⁹, 1993, Simon et al.⁶², 1995, Esberard et al.¹⁴, 1996, Esberard et al.¹⁵, 1996, Maniglia et al.⁴², 2003).

A participação dos íons cálcio do hidróxido de cálcio tem sido observada em áreas de mineralização, nas barreiras de tecido mineralizado observadas em proteções pulpares, pulpotomias e nos selamentos biológicos apicais (Holland²³, 1971, Silva⁵⁸, 1988, Silva, 1991⁵⁹, Leonardo et al.³⁷, 1993, Leonardo et al.³⁹, 1995). É atribuída a esses íons, a capacidade de ativar a ATPase cálcio dependente, presente em áreas a serem mineralizadas (Tronstad et al.⁸⁰, 1981).

Frente às propriedades do hidróxido de cálcio, salienta-se a importância das suas propriedades físico-químicas, as quais estão vinculadas às condições clínicas de uso, observadas, principalmente, durante o preenchimento do espaço do canal radicular. Os veículos utilizados nas pastas devem possibilitar a

dissociação iônica do hidróxido de cálcio, visto que a mesma é indispensável para que ocorra seu efeito biológico podendo ser influenciada pela viscosidade e hidrossolubilidade das formulações.

A escolha das pastas testadas baseou-se na recente entrada no mercado nacional da pasta UltraCal XS e Calcicur, sendo pouco conhecidas suas propriedades físico-químicas e biológicas.

Nossa opção pela metodologia empregada neste estudo, para a determinação da liberação dos íons hidroxila, através do emprego de eletrodo acoplado a um peagâmetro deu-se devido à facilidade de técnica e pelo fato de oferecer uma padronização para a reprodutibilidade das medidas.

A análise do cálcio contido nas pastas a serem testadas, utilizando a espectrofotometria por absorção atômica, tem sido avaliada por meio do espectrofotômetro, por ser um método confiável, seguro e rápido e em muito utilizado por outros autores (Leonardo et al.³⁵, 1992, Leonardo et al.³⁶, 1993, Gomes et al.¹⁹, 1996, Maniglia et al.⁴², 2003). A determinação da concentração de íons cálcio presentes em uma solução pode ser feita, também, através da técnica de titulação condutimétrica, a qual se baseia na variação da condutância da solução, pela substituição de íons presentes devido a uma reação química. Em suma, o método consiste em titular uma solução desconhecida de cálcio com uma solução padrão de EDTA.

A utilização de implantes, com tubos de polietileno, para avaliar a biocompatibilidade, deveu-se à sua boa tolerância pelo tecido conjuntivo e a possibilidade de remoção total do material empregado, sem risco de reação do tecido com o próprio tubo, fato esse passível de ocorrência quando do emprego de tubos de dentina. Segundo Souza⁶⁹ (1976) os tubos de dentina proporcionam

maior facilidade à aderência de tecido conjuntivo com as paredes do mesmo. Além disso, o tubo de polietileno é passível de ser esterilizado, seu diâmetro interno é padronizado, e seu formato cilíndrico fornece não só um local adequado para a colocação dos materiais, mas também favorece sua posterior inserção nos tecidos a serem analisados.

Um outro aspecto que merece atenção é a manutenção de ambas as extremidades dos tubos abertas, fato esse que assegura a análise do tecido de uma das aberturas, caso a outra ficasse comprometida, diminuindo, assim, as chances de perda das amostras. Outrossim, se torna mais fácil a inserção dos materiais, principalmente as pastas, sem bolhas e espaços vazios. O aspecto desfavorecedor deste método é o risco de extravasamento de material no momento da inserção, o que poderia deixar mais material de um lado do que o outro. A confecção de lojas cirúrgicas, através da incisão, bem como a colocação cuidadosa do tubo, minimizou tal risco.

O emprego de ratos Wistar para a implantação dos tubos de polietileno justifica-se no sentido de se obter um modelo biológico padrão para os materiais a serem estudados. A determinação da idade e peso do animal deveu-se principalmente ao fato de que a partir das características escolhidas os animais teriam condições de saúde e resistência capazes de suportar o procedimento durante o transcorrer do experimento (Trindade⁷⁹, 2003, Semenoff⁵⁶, 2003).

O critério de randomização estratificada (Suzin & Rösing⁷⁴, 1999) dos materiais em 04 quadrantes, no dorso do animal, deveu-se à tentativa de diminuição da possível interferência do fator posição sobre as respostas inflamatórias, propiciando que os materiais pudessem ser analisados em todos os quadrantes.

O protocolo anestésico utilizado tem período de latência de 5 a 7 minutos e um período de recuperação anestésica relativamente curto quando comparado a outros (de 30 a 40 minutos), o que dispensou a monitoração pós-anestésica. A manutenção anestésica foi realizada através da administração de 0,1mL da solução/100g de animal da mesma mistura, sempre que os espécimes demonstraram sinais de recuperação anestésica, tomando-se o cuidado de não administrar doses múltiplas sucessivas, o que levaria a um efeito cumulativo e indesejável.

No sentido de minimizar o desconforto do animal, quando da sua morte, foi utilizado nesse estudo a técnica de injeção intracardíaca com KCl, realizada com os animais anestesiados. Essa técnica foi aceita pelo Comitê de Ética, por ser, talvez, a que menos cause sofrimento aos animais, quando comparada à overdose anestésica, o emprego do éter e até mesmo o deslocamento cervical.

O processamento histológico foi realizado de acordo com o protocolo estabelecido pelo laboratório de histologia da Universidade Luterana do Brasil. Quanto aos cortes semi-seriados, os mesmos permitiram a visualização de diferentes profundidades de um mesmo local. A escolha da coloração recaiu sobre a hematoxilina e eosina, dada a sua especificidade em corar o tecido conjuntivo, possibilitando avaliar com clareza a presença dos diferentes eventos celulares.

Levando em consideração que a análise dos eventos celulares tratou-se de caráter subjetivo, no que se refere à quantificação e qualificação dos mesmos, foi optado pela utilização de um único examinador, portador de experiência na análise de lâminas histológicas. Esse examinador em nenhum momento soube qual era o material de que se tratava o presente estudo, bem como desconhecia o tempo

experimental que estava sendo analisado, de tal forma que nenhuma influência de parte do observador interferiu na interpretação das reações teciduais.

Quanto ao tratamento estatístico envolvido nesse estudo, o emprego da Análise da Variância - 1via (ANOVA) para a avaliação das propriedades físico-químicas permitiu a comparação do pH das pastas bem como a liberação de cálcio das mesmas em termos de valor basal, mínimo, máximo e delta, uma vez que a Análise da Variância para medidas repetidas foi rejeitada em função do $n=3$ (número de leituras de pH e liberação de cálcio) serem pequenos em relação ao número de repetições.

Embora a Análise da Variância seja recomendada para a comparação de variáveis paramétricas, a mesma também tem sido empregada quando do uso de valores categóricos (escores), pois ao contrário do que se possa pensar, a inferência na análise de dados de variáveis ordinais podem envolver procedimentos paramétricos (Chilton¹², 1982, Montgomery⁴⁵, 1984, Zar⁸², 1996).

Corroborando com isto, Campbell & Machin¹¹ (1993) afirmam que se os dados são ordinais categóricos, podem ser atribuídos escores, como 1, 2, 3 e 4 e calculada a média. Essa afirmação é compartilhada por Snedecor & Cochran⁶⁷ (1980), Montgomery⁴⁵ (1984), onde os autores relatam que a utilização desse método de análise possui uma grande aplicabilidade no desenho experimental para o qual não existe alternativa não paramétrica disponível.

Durante todo o período experimental, as pastas de hidróxido de cálcio mantiveram sempre o pH acima de 12, o que denota por si só a alcalinidade das mesmas. Até 45 dias, o pH da pasta controle sempre se mostrou superior quando em comparação com a Calcicur e a UltraCal. Da mesma forma, a pasta Calcicur manteve-se com seu pH mais alto em relação a UltraCal ao longo desse tempo. É

possível admitir que tal resultado esteja vinculado ao tipo de veículo de cada uma das pastas. Tanto a pasta controle quanto à pasta Calcicur apresentavam em suas formulações um veículo aquoso, o qual permitiu uma dissociação iônica mais rápida e conseqüentemente níveis de pH mais elevados, já nos primeiros momentos. Por outro lado, mesmo sem o prévio conhecimento dos componentes da fórmula da pasta UltraCal, os resultados sugeriram que a mesma não apresentava um veículo aquoso e sim viscoso. Essa maior viscosidade influenciou na liberação mais lenta, porém gradual de íons hidroxila para o meio.

Dentro de uma faixa estreita de pH (12,02 – 12,62), a análise estatística mostrou-se significativa quando da comparação dos três materiais, com maiores níveis de pH para a pasta controle, Calcicur e UltraCal respectivamente. Provavelmente, a inclusão, no estudo, de uma solução com pH neutro (controle negativo) poderia indicar a ausência de significância entre as três pastas estudadas.

Quando do emprego da pasta de hidróxido de cálcio como curativo de demora nos casos de necrose pulpar e reação periapical crônica, a importância da manutenção da alcalinidade é fundamental, e com relação a esse fato as 3 pastas cumpriram essa exigência.

Nossos resultados estão de acordo com os de Leonardo et al.³⁵(1992), Leonardo et al.³⁶ (1993), Beltes et al.⁶ (1997) e Rabelo⁵² (2003) onde a estabilidade do pH (acima de 12) das pastas aquosas de hidróxido de cálcio, durante o período experimental esteve presente.

Foi possível verificar que as três pastas de hidróxido de cálcio permitiram a liberação progressiva de cálcio em todos os momentos dessa pesquisa. Entretanto os maiores valores foram encontrados para a pasta controle e Calcicur (pastas

aquosas) respectivamente, até 45 dias. Aos 60 dias foi observada uma importante diminuição na liberação de cálcio das pastas aquosas, sendo que as médias dos valores das três pastas estiveram pela primeira vez muito próximas. Uma explicação para isso pode ser a formação de carbonato de cálcio ocorrido com as duas pastas aquosas, apesar da utilização de Nitrogênio para a eliminação do CO₂ de dentro do recipiente. Esse fato, provavelmente, ocorreu com a pasta UltraCal, porém não de forma significativa, porque a solubilidade do carbonato de cálcio é menor em veículos viscosos do que em aquosos.

Os resultados da liberação de cálcio desse trabalho estão consoantes com os de Leonardo et al.³⁵ (1992), Leonardo et al.³⁶ (1993), Beltes et al.⁶ (1997), Maniglia et al.⁴² (2003) e Rabelo⁵² (2003) que observaram nas pastas de hidróxido de cálcio com veículo aquoso uma maior liberação desses íons nos primeiros 30 dias, quando comparadas com um veículo viscoso. Da mesma forma que os trabalhos citados, quando do emprego de um veículo viscoso os valores foram ascendentes atingindo as maiores médias aos 30 dias.

A constatação desses níveis de liberação de íons cálcio é importante quando do emprego dessas pastas de hidróxido de cálcio junto ao tecido conjuntivo, na busca de um reparo por tecido mineralizado, através da ativação de importantes sistemas enzimáticos como o da fosfatase alcalina, pirofosfatase e ATPase cálcio dependente.

Os resultados da análise de compatibilidade biológica deste estudo demonstraram redução dos eventos celulares com o decorrer do período. Esse perfil foi verificado para todas as pastas e está de acordo com estudos anteriores (Souza et al.⁷⁰, 1977; Holland et al.²⁷, 1999; Holland et al.²⁸, 2001; Semenov⁵⁶, 2003). A resposta aos 07 dias de contato com o material auxilia na verificação do efeito temporal, mas deve ser analisado com cautela. Parte das respostas

verificadas é fruto do procedimento cirúrgico realizado para a colocação dos tubos. Desde Torneck⁷⁶ (1966), as respostas celulares verificadas na região próxima a tubos vazios, neste período experimental, eram evidentes.

Na comparação de 07 dias, as respostas dos distintos materiais foram similares do ponto de vista estatístico. Do ponto de vista da observação geral dos eventos, chamou a atenção à presença de neutrófilos em menor severidade na pasta Ultracal quando comparada ao controle e à pasta Calcicur. É possível, como exercício de ilação, atribuir este achado à natureza do veículo das pasta. O veículo viscoso da pasta UltraCal teria uma menor difusão inicial nos tecidos, ficando mais retido no tubo. Por outro lado, as pastas com veículo aquoso não apenas difundiriam nos tubos, como estimulariam o sistema imune, com os neutrófilos, ou micrófagos, a digerir e eliminar mais rapidamente este material estranho aos tecidos. Com o tempo, este evento parece não ter provocado a morte dos neutrófilos, que traria como consequência a formação de pus. Na seqüência, essas células tender a diminuir sua participação no processo inflamatório.

Aos 30 dias, a redução dos elementos celulares e a resposta leve à moderada, encontrada na maioria das lâminas foram verificadas em todos os materiais. Novamente, o UltraCal, na observação realizada, obteve respostas indicativas de menor reação tecidual no que tange à presença de linfócitos e plasmócitos. Essas células, relacionadas a processos crônicos, participam nas respostas humoral e celular do organismo, pela formação de anticorpos ou pela produção de citocinas, que atingem distintos tecidos do organismo, causando uma cascata de respostas inflamatórias. Na cessação da irritação local, fatores de crescimento são liberados, estimulando o povoamento local de células conjuntivas e o restabelecimento das condições de normalidade. Ora, se os plasmócitos e linfócitos estavam menos evidentes no contato com o material UltraCal, o

raciocínio prévio da influência da viscosidade do material também se aplica. A maior viscosidade causa uma elevação gradual de pH e liberação iônica lenta, produzindo respostas menos evidentes dos elementos celulares de defesa.

Claro está que as assertivas supracitadas devem ser relativas, pois a análise estatística não confirmou essas observações. Não houve diferenças tão marcantes que o teste estatístico, dentro dos critérios adotados e com o “n” utilizado, pudesse apontar. Ainda assim, a relevância das observações apontadas em estudos biológicos deve ser considerada. Não é o teste estatístico o patamar único de consideração para a análise.

O estudo das propriedades físico-químicas e dos testes de biocompatibilidade dos materiais empregados em Endodontia é fascinante. Esse estudo nos possibilitou trabalhar com metodologias já testadas e que atestam a veracidade dos resultados. Acreditamos que esse trabalho não põe fim ao estudo das propriedades físico-químicas e de biocompatibilidade para esses materiais, mas representa apenas o início, vislumbrando um amplo campo de pesquisa, que possa comprovar a confiabilidade desses materiais.

7 CONCLUSÕES

Baseados na metodologia e resultados é lícito concluir:

- 1- As pastas UltraCal, Calcicur e controle mantiveram-se com pH acima de 12 até 60 dias.
- 2- A liberação de íons hidroxila e cálcio ocorreu de forma mais lenta e gradual, na pasta UltraCal.
- 3- A liberação de íons cálcio e hidroxila, das pastas controle e Calcicur, deu-se de forma mais rápida, até 45 dias.
- 4- As pastas controle, Calcicur e UltraCal mostraram um comportamento biológico semelhante, no tecido subcutâneo, nos períodos de 7 e 30 dias.
- 5- Houve uma redução significativa nos eventos inflamatórios de 7 para 30 dias, sendo possível inferir a biocompatibilidade das 3 pastas testadas.

8 * REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ALENCAR, A.H.G. **Avaliação da presença do p-monoclorofenol e do efeito antimicrobiano residual da associação do hidróxido de cálcio (Calen) + P-monoclorofenol utilizada como medicação intracanal em dentes de cães despulpados e reação periapical crônica induzida.** Araraquara. 1995. 105p. Dissertação (Mestrado em Endodontia) Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 2 ALENCAR, A.H.G. **Determinação do efeito antibacteriano residual da associação Calen (hidróxido de cálcio) + paramonoclorofenol canforado quando utilizada como medicação intracanal em dentes com necrose pulpar e reação periapical crônica, e dos microrganismos no canal radicular antes do preparo biomecânico e após utilização da medicação intracanal.** Araraquara. 1998. 196p. Tese (Doutorado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 3 ANTHONY, D.R., GORDON, T.M., DEL RIO, C.E. The effect of three vehicles on the pH of calcium hydroxide. **Oral Surg. Oral Méd. Oral Pathol.**, St, Louis, v.54, n.5, p.560-5, Nov.1982.

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: informação e documentação – referências – elaboração. Rio de Janeiro: ABNT, 2002. 24p.

- 4 ASSED, S. **Prevalência de microrganismos em canais radiculares de dentes humanos com reação periapical crônica. Efeito do preparo biomecânico e do curativo de demora. Imunofluorescência indireta e cultura.** Ribeirão Preto, 1993. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.
- 5 ASSED, S. et al. Anaerobic microorganisms in root canals of human teeth with chronic apical periodontitis detected by indirect immunofluorescence. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v.12, n.2. p.66-9, Apr. 1996.
- 6 BELTES, P.G. et al. In vitro release of hydroxyl ions from six types of calcium hydroxide nonsetting pastes. **J.Endod.**, Baltimore, v.23, n.7, p.413-15, Jul. 1997.
- 7 BONETTI FILHO, I. **Tratamento de canal radicular de dentes de cães com necrose pulpar e lesão periapical crônica induzida, realizado em sessão única e duas sessões, utilizando três diferentes curativos de demora. Avaliação radiográfica, histopatológica e histomicrobiológica.** Araraquara, 2000. 336 p. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista.
- 8 BYSTRÖM, A., SUNDQVIST, G. Bacteriological evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v.89, n.4 p.321-8, Aug. 1981.
- 9 BYSTRÖM, A., CLEASON, R., SUNDQVIST, G., The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v.1, n.5, p.170-5, Oct. 1985,

- 10 BYSTRÖM, A. et al. Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v.3, n.3, p. 58-63, Apr. 1987.
- 11 CAMPBELL, M.J., MACHIN, D. **Medical Statistics: A common sense approach.** 2nd ed. Nova York: John Willey and Sons, 1993. p.56.
- 12 CHILTON, N.M. **Design and analysis in dental and oral research.** 2nd.ed. Nova York: Praeger, 1982. P.6, p.354.
- 13 DUARTE, M.A.H., DEMARCHI, A.C.C.O., MORAES, I.G. Determination of pH and calcium ion release provided by pure and calcium hydroxide-containing AH Plus. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.37, n.1, p.42, Jan. 2004.
- 14 ESBERARD, R., CARNES JR., D,R., del RIO, C.E. Changes in pH at dentin surface in roots obturated with calcium hydroxide pastes. **J. Endo.**, Baltimore, v.22, n.8, p.402-5, Aug. 1996.
- 15 ESBERARD, R., CARNES JR., D,R., del RIO, C.E. Reabsorção radicular influência de diferentes tipos de pastas de hidróxido de cálcio na mudança de pH da superfície radicular. **RGO**, Porto Alegre, v.44, p.267-70, 1996.
- 16 FABRICIUS, L. et al. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v.90, n.2, p.134-44, Apr. 1982.

- 17 FIGUEIREDO, J. A. P. et al. The histological effects of four endodontic sealers implanted in the oral mucosa: submucous injection versus implant in polyethylene tubes. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.34, n.5, p.377-385, Jul, 2001.
- 18 FUSS, Z. et al. Intracanal pH Changes of calcium hydroxide pastes exposed to carbon dioxide in vitro. **J. Endod.**, Baltimore, v.22, n.7, p.362-4, Jul. 1996.
- 19 GOMES, I.C. et al. Difusion of calcium through dentin. **J. Endod.**, Baltimore, v.22, n.11, p.590-5, Nov, 1996.
- 20 GORDON,T.M., ALEXANDER, J.B. The effects of calcium hydroxide on bovine pulps tissue: variations in pH and calcium concentrations. **J. Endod.**, Baltimore, v.11, n.4, p.156, 1985.
- 21 HAAPASALO, M., ORSTAVIK, D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. **J. Dent. R.**, Washington, v.66, n.8, p.1375-9, Aug. 1987.
- 22 HEITHERSAY, G.S. Calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth with associated pathology. **J. Br. Endod. Soc.**, London, v.8, n.2, p.74-93, Jul. 1975
- 23 HOLLAND, R. Histochemical response of amputed pulps to calcium hydroxide. **Rev. Bras. Pesqui. Méd. Biol.**, v.4, n.2, p.83-95, 1971.
- 24 HOLLAND, R. et al. **Manual de Endodontia** – Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 1978/79, p.155.
- 25 HOLLAND, R. et al. A histological study of calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth of dogs. **J. Br. Endod. Soc.**, London, v.12, n.1, p.15-23, 1979.

- 26 HOLLAND, R. et al. Reparação dos tecidos periapicais com diferentes formulações de Ca(OH)_2 – estudo em cães. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v.53, p. 327-31, 1999 .
- 27 HOLLAND, R. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. **J. Endod.**, Baltimore, v.25, n.3, p.161-166, Mar,1999.
- 28 HOLLAND, R. et al. Reaction of rat connective tissue to implanted dentine tubes filled with mineral trioxide aggregate, Portland cement or calcium hydroxide. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v.12, n.1, p.03-08, Jan,2001.
- 29 HOLLAND, R. et al. Calcium salts deposition in rat connective tissue after the implantation of calcium hydroxide-containing sealers. **J. Endod.**, Baltimore, v.28, n.3, 173-6, Mar, 2002.
- 30 KAKEHASHI, S., STANLEY, H.R., FITZGERALD, R.J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St, Louis, v.20, p.340-349, Sep.1965.
- 31 KOLOKOURIS, I. et al. In vivo comparison of the biocompatibility of two root canal sealers implanted into the subcutaneous connective tissue of rats. **J. Endod.**, Baltimore, v.24, n.2, p.82-5, Feb,1998.
- 32 LEAL, J.M., HOLLAND, R., ESBERARD, R.M. Sealapex, CRCS, Fillcanal e N-Rickert, Estudo da biocompatibilidade em tecido conjuntivo subcutâneo de rato. **Odontol. Clin.**, São Paulo, v.2, n.1, p.7-14, Jan-Mar. 1988.

- 33 LEONARDO, M.R., HOLLAND, R. Healing process after vital pulp extirpation and immediate root canal filling with calcium hydroxide. **Rev. Fac. Odontol. Araçatuba**, Araçatuba, v.3, n.2, 159-164, 1974.
- 34 LEONARDO, M.R. Endodontia, Considerações Iniciais Definição- Importância- Conceito, IN: LEONARDO, M.R., LEAL, J.M. **Endodontia: tratamento de canais radiculares**. 2.ed, São Paulo: Panamericana, 1991, p.19-28.
- 35 LEONARDO, M.R. et al. Hidróxido de cálcio em Endodontia: avaliação da alteração do pH e da liberação de íons cálcio em produtos endodônticos à base de hidróxido de cálcio. **RGO**, Porto Alegre, v.40, n.1, p.69-72, 1992.
- 36 LEONARDO, M.R. et al. Determinação de íons Ca^{+2} , pH e solubilidade de pastas a base de hidróxido de cálcio contendo PMC e PMCC. **Rev. Bras. Odontol.**, Rio de Janeiro, v.50, n.1, p.5-10, Jan-Fev. 1993.
- 37 LEONARDO, M.R. et al. Histological evaluation of therapy using a calcium hydroxide dressing for teeth with incompletely formed apices and periapical lesions. **J. Endod.**, Baltimore, v.19, n.7, p.348-52, Jul. 1993.
- 38 LEONARDO, M.R. et al. Radiographic and microbiologic evaluation of post treatment apical and periapical repair of root canals of dogs teeth with experimentally induced chronic lesion, **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St, Louis, v.78, n.2 p.232-8, Aug. 1994.
- 39 LEONARDO, M.R. et al. Histopathological observations of periapical repair in teeth with radiolucent areas submitted to two different methods of root canal treatment. **J. Endod.**, Baltimore, v.21, n.3, p.137-41, Mar. 1995.

- 40 LEONARDO, M.R., LEAL, J.M. **Endodontia: tratamento de canais radiculares**. 3. ed. São Paulo: Ed. Panamericana, 1998.
- 41 LEONARDO, M.R. et al. In vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics. **J. Endod.**, Baltimore, v.26, n.7, p.391-4, Jul. 2000.
- 42 MANIGLIA, C.A.G. et al. Dissociação iônica de medicações intracanaís experimentais à base de hidróxido de cálcio, **Pesqui. Odontol. Bras.**, São Paulo, v,17, suplem., p,60, 2003.
- 43 MITCHELL, J.P., SHANKWALKER, G.B. Osteogenic potential of calcium hydroxide and other materials in soft tissue ad bone wounds, **J. Dent. Res.**, Washington, v.37, n.6, p.1157-1163, Nov-Dec.1958.
- 44 MÖLLER, A.J.R. et al. Influence on periapical tissues of indigeneous oral bacteria in necrotic pulp tissue in monkeys. **Scan. J. Dent. Res.**, v.89, n.6, p.475-84, Dec.1981.
- 45 MONTGOMERY, D.C. **Design and analysis of experiments**. 2nd ed. Nova York: John Wiley e Sons, 1984. P.118.
- 46 NAIR, P.N.R. Intra-radicular bacteria and fungi in root-files, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long term light and electron microscopic follow-up study. **J.Endod.**, Baltimore, v.16, n.12, p.580-88, Dec.1990.
- 47 NELSON FILHO, P. **Avaliação da resposta inflamatória, após a injeção de diferentes pastas de hidróxido de cálcio, no tecido conjuntivo subcutâneo e**

- na cavidade peritoneal de camundongos isogênicos.** Araraquara. 1996. 144p. Tese (Mestrado em Odontopediatria) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 48 NELSON FILHO, P. Efeito da entotoxina (LPS), associada ou não ao hidróxido de cálcio, sobre os tecidos apicais e periapicais de dentes de cães, Avaliação histopatológica.** Araraquara. 2000. 105p. Tese (Doutorado em Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 49 NERWICH, A., FIGDOR, D., MESSER, H.H.** pH changes in root dentin over a 4-weeks period following root canal dressing with calcium hydroxide. **J. Endod.**, Baltimore, v.19, n.6, p.302-6, June, 1993.
- 50 ORSTAVIK, D., KEREKES, K., MOLVEN, O.** Effects of extensive apical reaming and calcium hydroxide dressing on bacterial infection during treatment of apical periodontitis: a pilot study. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.24, n.1, p.1-7, Jan. 1991.
- 51 PASHLEY, D.H., KALATHOOR, S., BURNHAN, D.** The effects of calcium hydroxide on dentin permeability. **J. Dent. Res.**, Washington, v.65, n.3, p.417-20, March, 1986.
- 52 RABELO, R.T.S. Penetrabilidade de diferentes pastas à base de hidróxido de cálcio na dentina radicular de dentes decíduos e permanentes. Avaliação pH e da liberação de íons cálcio.** Ribeirão Preto. 2003. 98p. Dissertação (Mestrado em Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão de Preto, Universidade de São Paulo.

- 53 RASMUSSEN, P., MJÖR, I.A. Calcium hydroxide as ectopic bone inductor in rats. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v.79, n.1, p.24-30, 1971.
- 54 SAFAVI, K.E., NICHOLS, F.C. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. **J. Endod.**, Baltimore, v.19, n.2, p.76-8, Feb., 1993.
- 55 SAFAVI, K.E., NICHOLS, F.C. Alteration of biologic properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. **J.Endod.**, Baltimore, v.20, n.3, p.127-9, Mar.1994.
- 56 SEMENOFF, T.A.D.V. **Análise comparativa da reação do tecido submucoso de ratos ao implante de hidróxido de cálcio, de clorexidina e da mistura de ambos.** Canoas. 2003.132p. Dissertação (Mestrado-Endodontia) – Curso de Odontologia, Universidade Luterana do Brasil.
- 57 SIDNEY, G.B. **Identificação de bactérias anaeróbias após o preparo do canal radicular com emprego de medicação de hidróxido de cálcio em diferentes tempos.** São Paulo. 1996. 147p. Tese (Doutorado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo.
- 58 SILVA, L.A.B. **Rizogênese incompleta – efeito de diferentes pastas de hidróxido de cálcio na complementação radicular e na reparação periapical de dentes de cães – estudo histológico.** Araraquara. 1988. 168p. Dissertação (Mestrado em Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 59 SILVA, L.A.B. **Rizogênese incompleta – efeito dos curativos de “demora e expectante”, no tratamento de canais radiculares de dentes de cães com reação periapical crônica – avaliação radiográfica e histopatológica.**

Araraquara. 1991. 192p. Tese (Doutorado em Odontopediatria) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

- 60 SILVA, L.A.B. Inflammatory response to calcium hydroxide based root canal sealers. **J. Endod.**, Baltimore, v.23, n.2, p.86-90, Feb.1997.
- 61 SILVEIRA, F.F. **Efeito do tempo de ação do curativo de demora à base de hidróxido de cálcio, utilizado em canais radiculares de dentes de cães com lesão periapical induzida, Análise histopatológica e microbiológica.** Araraquara. 1997. 218p. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 62 SIMON, S.T., BHAT, K.S., FRANCIS, R. Effect of four vehicles on the calcium hydroxide and the release of calcium íon. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.** St. Louis, v.80, n.4, p.459-64, Oct. 1995.
- 63 SIQUEIRA JR, J.F., UZEDA, M. Influence of different vehicles on the antibacterial effects of calcium hydroxide. **J. Endod.**, Baltimore, v.24, n.10, p.663-65, Oct. 1998.
- 64 SIQUEIRA JR, J.F., LOPES, H.P. Medicação Intracanal IN: LOPES, H.P., SIQUEIRA JR., J.F. **Endodontia: Biologia e Técnica.** Rio de Janeiro. Medsi. p.397-426, 1999.
- 65 SJÖGREN, U., HAGGLUND, B., SUNDQVIST, G. Factors affecting the long-terms results of endodontic treatment. **J.Endod.**, Baltimore, v.16, n12, p.498-504, Dec.1990.

- 66 SJÖGREN, U., FIGDOR, D., SPANGBERG, L., SUNDQVIST, G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. **Int. Endod.J.**, Oxford, v.24, n.3, p.119-25, May.1991.
- 67 SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W.G. **Statistical Methods**. 7nded. Ames: Iowa States University Press, 1980. P. 204-206.
- 68 SÓ, M.V.R. **Avaliação da capacidade de limpeza das soluções de hipoclorito de sódio a 1,5 % e EDTA a 17% , utilizadas isolada ou alternadamente durante o preparo do canal radicular**. Canoas. 1999. 94p. Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Curso de Odontologia da Universidade Luterana do Brasil.
- 69 SOUZA, V. **Reação do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante de tubos de dentina, com aberturas de diferentes diâmetros, preenchidos com algumas pastas à base de hidróxido de cálcio**. Araçatuba. 1976. Tese (Livre Docência). Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista.
- 70 SOUZA, V. et al. Reaction of rat connective tissue to the implant of calcium hydroxide pastes. **Rev. Fac. Odont. Araçatuba**, v.6, n.1/2, p.69-79, 1977.
- 71 SOUZA,V. et al. Tratamento não cirúrgico de dentes com lesões periapicais. **Rev Brás. Odont.**, Rio de Janeiro, v.46, n.2, p.39-46, 1989.
- 72 SOUZA, V., HOLLAND, R., MENEZES, M.R. Comportamento biológico do cimento de óxido de zinco e eugenol após contato com o hidróxido de cálcio, Estudo

- histológico em tecido subcutâneo de ratos. **Rev. Bras. Odont.**, Rio de Janeiro, v.48, n.1, p.2-10, 1991.
- 73 SUNDQVIST, G, **Bacteriological studies of necrotic dental pulps**. Uméa.1976. Tese (PhD) – Umea University Odontological. Suécia.
- 74 SUZIN, C., RÖSING, C.K. Seleção dos melhores métodos para a questão em estudo. In:_____. **Praticando a Odontologia baseada em evidências**. Canoas. Editora da Ulbra. 1999. Cap.1. p.36.
- 75 TANOMARU FILHO, M. **Reparo apical e periapical após tratamento endodôntico em dentes com reação periapical crônica em função da solução irrigadora e do curativo de demora – Estudo em cães, Resposta inflamatória após injeção de diferentes soluções irrigadoras – Estudo em camundongos**. Araraquara. 2001. 337p. Tese (Livre – Docência). Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista.
- 76 TORNECK, C.D. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Louis. v.21.n.7, p.379-387, Mar. 1966.
- 77 TORNECK, C.D., SMITH, J.S., GRINDALL, P. Biologic effects of endodontic procedures on developing incisor teeth, IV, Effect of debridment procedures and calcium hydroxide-camphorated parachlorophenol paste in treatment of experimentally induced pulp and periapical disease. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St, Louis, v.35, n.4, p.541-54, Apr.1973.
- 78 TORNECK, C.D., MOE, H. HOWLEY, T.P. The effect of calcium hydroxide on porcine pulp fibroblasts in vitro. **J.Endod.**, Baltimore, v.9, n.4, p.131-36, Apr.1983.

- 79 TRINDADE, A.C. **Análise comparativa da resposta tecidual ao Agregado Trióxido Mineral (MTA) e ao Cimento de Portland, isolado e acrescido de substância radiopacizante.** Canoas. 2003. 105p. Dissertação (Mestrado em Endodontia) - Curso de Odontologia, Universidade Luterana do Brasil.
- 80 TRONSTAD, L. et al. PH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. **J. Endod.**, Baltimore, v.7, n.1, p.17-21, Jan. 1981.
- 81 VASCONCELLOS, A.G., DATTE, C.E., GAVINI,G. Avaliação do pH das pastas de hidróxido de cálcio veiculadas com diferentes sais anestésicos. **Pesqui. Odontol. Bras.**, São Paulo, v.14, suplem, p.26, 2000.
- 82 ZAR, J.H. **Biostatistical Analysis.** 3thed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 1996. p.269-270.
- 83 ZANINI, A., SIQUEIRA E.L., BOMBANA, A.C. Variação do pH externo frente a utilização de pastas de hidróxido de cálcio. **Pesqui. Odontol. Bras.**, São Paulo, v.15, suplem, p..74, 2001.
- 84 ZMENER, O., GUGLIELMOTTI, M.B., CABRINI, R.L. Biocompatibility of two calcium hydroxide-based endodontic sealers: a quantitative study in the subcutaneous connective tissue of the rat. **J. Endod.** Baltimore, v.14, n.5, p.229-35, May. 1988.
- 85 ZMENER, O., GUGLIELMOTTI, M.B., CABRINI, R.L. Tissue response to an experimental calcium hydroxide-based endodontic sealer: a quantitative study in subcutaneous connective tissue of rat. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v.6, p.66-72, 1990.

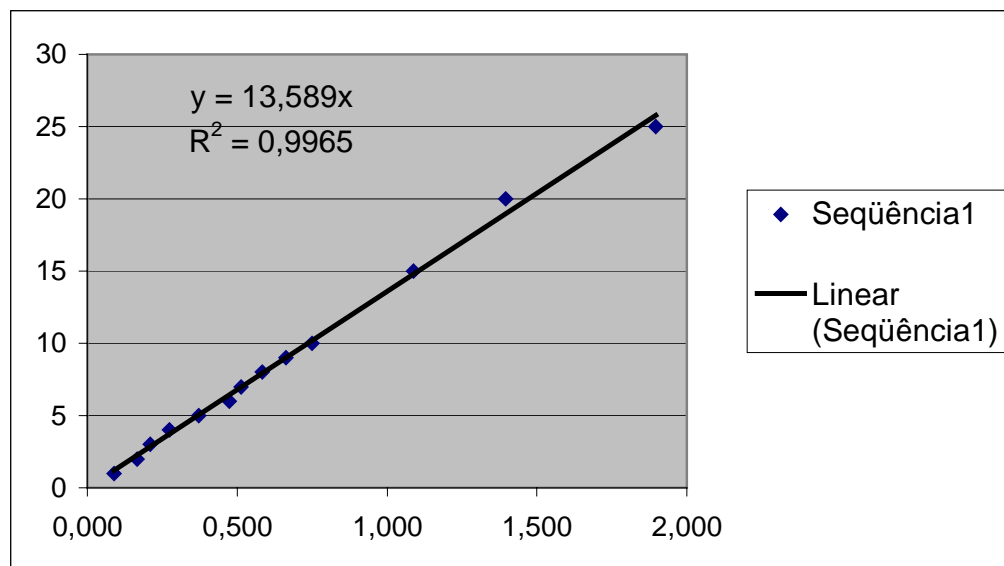
ANEXOS

Anexo 1- Calibração do Cálcio com soluções padrões; leitura em Absorbância.

CALIBRAÇÃO DE Cálcio

Leitura (Abs) Concentração (ppm)

0,090	1
0,167	2
0,210	3
0,274	4
0,372	5
0,473	6
0,512	7
0,584	8
0,663	9
0,749	10
1,088	15
1,395	20
1,896	25



Anexo 2- Valores de Absorbância, em ppm, do cálcio presente nas soluções contendo as 3 pastas de hidróxido de cálcio, nos diferentes tempos experimentais.

AMOSTRA	LOCALIZAÇÃO	LEITURA 1	LEITURA 2	LEITURA 3	MÉDIA
1° dia	Calcicur 1	1,198	1,203	1,194	1,198
	Calcicur 2	1,238	1,237	1,240	1,238
	Calcicur 3	1,409	1,396	1,401	1,402
	P.B.				1,280
	Ultracal 1	0,712	0,715	0,714	0,714
	Ultracal 2	0,606	0,606	0,606	0,606
	Ultracal 3	0,542	0,543	0,542	0,542
	P.B.				0,621
	Controle 1	1,484	1,498	1,499	1,494
	Controle 2	1,500	1,505	1,492	1,499
	Controle 3	1,337	1,336	1,334	1,336
	P.B.				1,443
2 dias	Calcicur 1	1,535	1,542	1,524	1,534
	Calcicur 2	1,626	1,628	1,627	1,627
	Calcicur 3	1,346	1,346	1,349	1,347
	P.B.				1,503
	Ultracal 1	1,115	1,117	1,115	1,116
	Ultracal 2	1,188	1,182	1,181	1,184
	Ultracal 3	1,203	1,203	1,201	1,202
	P.B.				1,167
	Controle 1	1,531	1,532	1,538	1,534
	Controle 2	1,783	1,787	1,789	1,786
	Controle 3	1,851	1,846	1,856	1,851
	P.B.				1,724
3 dias	Calcicur 1	1,701	1,692	1,698	1,697
	Calcicur 2	1,521	1,531	1,529	1,527
	Calcicur 3	1,403	1,407	1,407	1,406
	P.B.				1,543

Ultracal 1	1,140	1,137	1,135	1,137	
Ultracal 2	1,161	1,165	1,169	1,165	
Ultracal 3	1,197	1,195	1,198	1,197	
P.B.				1,166	

Controle 1	1,491	1,497	1,505	1,498	
Controle 2	1,685	1,694	1,685	1,688	
Controle 3	1,656	1,659	1,663	1,659	

1,615

7 Dias

Calcicur 1	1,504	1,512	1,508	1,508	
Calcicur 2	1,781	1,687	1,786	1,751	
Calcicur 3	1,469	1,473	1,481	1,474	
P.B.				1,578	

Ultracal 1	1,195	1,201	1,203	1,200	
Ultracal 2	1,245	1,246	1,247	1,246	
Ultracal 3	1,253	1,252	1,255	1,253	
P.B.				1,233	

Controle 1	1,781	1,784	1,788	1,784	
Controle 2	1,712	1,711	1,713	1,712	
Controle 3	1,811	1,804	1,816	1,810	

1,769

15 dias

Calcicur 1	1,424	1,416	1,426	1,422	
Calcicur 2	2,068	2,063	2,056	2,062	
Calcicur 3	1,558	1,555	1,542	1,552	
P.B.				1,679	

Ultracal 1	1,222	1,226	1,223	1,224	
Ultracal 2	1,250	1,250	1,249	1,250	
Ultracal 3	1,454	1,452	1,457	1,454	
P.B.				1,309	

Controle 1	1,949	1,958	1,950	1,952	
Controle 2	1,759	1,756	1,748	1,754	
Controle 3	1,940	1,939	1,939	1,939	

1,882

30 dias

Calcicur 1	1,494	1,496	1,510	1,500	
Calcicur 2	1,855	1,881	1,872	1,869	
Calcicur 3	1,496	1,504	1,497	1,499	
P.B.				1,623	

Ultracal 1	1,233	1,228	1,234	1,232	
Ultracal 2	1,338	1,343	1,354	1,345	
Ultracal 3	1,354	1,358	1,379	1,364	
P.B.				1,313	

Controle 1	1,993	1,945	1,966	1,968	
Controle 2	1,775	1,745	1,755	1,758	
Controle 3	2,020	2,032	2,026	2,026	

1,917

45 dias

Calcicur 1	1,760	1,735	1,767	1,754	
Calcicur 2	1,882	1,896	1,900	1,893	
Calcicur 3	1,643	1,651	1,665	1,653	
P.B.				1,767	

Ultracal 1	1,281	1,286	1,291	1,286	
Ultracal 2	1,353	1,351	1,353	1,352	
Ultracal 3	1,237	1,243	1,232	1,237	
P.B.				1,292	

Controle 1	2,010	2,026	2,026	2,021	
Controle 2	1,888	1,866	1,890	1,881	
Controle 3	1,622	1,610	1,622	1,618	

1,840

60 dias

Calcicur 1	0,997	0,985	0,987	0,990	
Calcicur 2	1,342	1,344	1,341	1,342	
Calcicur 3	1,415	1,411	1,407	1,411	
P.B.				1,248	

Ultracal 1	1,240	1,240	1,239	1,240	
Ultracal 2	1,252	1,255	1,251	1,253	
Ultracal 3	1,209	1,209	1,209	1,209	
P.B.				1,234	

Controle 1	1,138	1,141	1,138	1,139	
Controle 2	1,035	1,034	1,031	1,033	
Controle3	1,414	1,415	1,414	1,414	
				1,196	

Anexo 3- pH das pastas de hidróxido de cálcio, nos diferentes tempos experimentais

	1 hora	1 dia	2 dias	3 dias	7 dias	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias
Calcicur 1	12,44	12,26	12,48	12,23	12,25	12,05	12,31	12,47	12,32
Calcicur 2	12,48	12,37	12,48	12,27	12,31	12,09	12,37	12,59	12,26
Calcicur 2	12,56	12,34	12,45	12,29	12,3	12,1	12,38	12,56	12,47
Ultracal 1	12,19	12,2	12,38	12,17	12,24	12,03	12,31	12,53	12,42
Ultracal 2	12,13	12,16	12,44	12,2	12,25	12,05	12,33	12,54	12,44
Ultracal 3	12,09	12,16	12,44	12,18	12,27	11,98	12,26	12,48	12,38
Controle 1	12,62	12,45	12,56	12,35	12,4	12,19	12,48	12,62	12,37
Controle 2	12,64	12,46	12,59	12,37	12,41	12,19	12,43	12,5	12,27
Controle 3	12,61	12,47	12,47	12,38	12,45	12,23	12,46	12,6	12,44

Anexo 4- Escores atribuídos pelo examinador aos eventos celulares de 7 dias

Lâminas	Neutrófilo	Linf/Plasm	Eosinófilo	Macrófago	Cond. Fib	Abscesso
Calcic 1D	2	2	1	3	2	1
Calcic 2C	2	3	1	3	2	1
Calcic 3F	4	4	1	4	3	2
Calcic 4F	3	4	1	4	2	1
Calcic 5A	3	4	1	4	2	1
Calcic 6A	3	4	1	4	2	1
Calcic 7C	2	4	1	4	2	1
Calcic 8C	2	4	1	4	2	1
Calcic 9C	2	4	1	4	2	1
Calcic10A	4	4	1	4	2	1
Ultra 0B	2	4	1	3	3	1
Ultra 1B	2	3	1	4	2	1
Ultra 2B	4	4	2	4	3	2
Ultra 3D	2	4	1	4	2	1
Ultra 4C	2	4	1	4	3	1
Ultra 6A	3	4	1	4	3	1
Ultra 7C	2	3	1	3	2	1
Ultra 8E	2	4	1	3	2	1
Ultra 9B	2	3	1	4	2	1
Ultra10B	2	4	1	4	2	1
Cont 1 B	2	3	1	3	3	1
Cont 2 B	3	4	1	4	2	1
Cont 3 A	2	3	1	2	2	1
Cont 4 D	3	4	1	4	2	2
Cont 5 A	3	4	1	4	2	2
Cont 6 C	3	4	1	4	2	1
Cont 7 A	4	4	2	4	3	2
Cont 8 D	2	3	1	3	2	1
Cont 9 E	4	4	1	4	2	2
Cont 10 A	2	4	1	4	3	1

Anexo 5- Escores atribuídos pelo examinador aos eventos celulares de 30 dias

Calcic 8A	2	4	1	3	2	1
Calcic 9C	1	2	1	2	2	1
Calcic10B	1	2	1	2	2	1
Calcic 6B	1	2	1	2	2	1
Calcic 5B	1	2	1	2	2	1
Calcic 4B	1	2	1	2	2	1
Calcic 2C	1	2	1	2	2	1
Calcic 1B	1	2	1	2	2	1
Calcic 3D	1	2	1	2	2	1
Calcic 7C	1	3	1	3	2	1
Ultra 1 E	1	2	1	2	2	1
Ultra 2 B	1	3	1	2	2	1
Ultra 3 A	1	2	1	2	2	1
Ultra 4 A	1	2	1	2	2	1
Ultra 5 D	1	2	1	3	2	1
Ultra 6 C	1	2	1	1	2	1
Ultra 7 B	1	2	1	2	2	1
Ultra 8 C	1	2	1	3	2	1
Ultra 9 C	1	2	1	3	2	1
Ultra10C	1	2	1	2	2	1
Cont 1 D	1	2	1	3	2	1
Cont 2 B	1	2	1	3	2	1
Cont 3 A	1	3	1	2	2	1
Cont 4 C	1	3	1	2	2	1
Cont 5 F	1	2	1	2	2	1
Cont 6 C	1	2	1	2	2	1
Cont 7 B	2	4	1	3	2	1
Cont 8 E	1	2	1	2	2	1
Cont 9 D	1	3	1	3	2	1
Cont 10 C	1	2	1	2	2	1

Anexo 6- Termo de avaliação e aprovação do Comitê de Ética

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a liberação de íons cálcio e pH, de três pastas à base de hidróxido de cálcio, a saber: UltraCal- XS, Calcicur e pasta aquosa, além de avaliar a resposta tecidual das mesmas em tecido conjuntivo subcutâneo, do dorso de ratos Wistar, nos períodos de 7 e 30 dias. A análise do cálcio contido nas pastas testadas foi realizada utilizando a espectrofotometria por absorção atômica. As leituras de pH foram efetuadas com o emprego de um peagâmetro. As mensurações do pH e liberação de cálcio foram realizadas nos períodos experimentais de 1 hora, 1, 2, 3, 7, 15, 30, 45 e 60 dias. Para a resposta de biocompatibilidade foram empregados 18 ratos Wistar, nos quais foram inseridos, no tecido subcutâneo do dorso, 04 tubos de polietileno, contendo em cada tubo uma das 3 pastas, nos períodos de 7 e 30 dias. Os resultados indicaram diferenças significativas entre o pH e liberação de cálcio das pastas estudadas, quando foram levados em consideração os valores no período inicial, valores mínimo, máximo e quando da comparação dos valores final e inicial (delta). O pH e liberação de cálcio foram maiores para a pasta controle e Calcicur, respectivamente, quando comparadas a UltraCal (ANOVA-1via). No experimento de biocompatibilidade não foi possível observar diferenças estatísticas significantes entre os 3 materiais testados nos períodos de 7 e de 30 dias, entretanto, levando em consideração os eventos celulares, foi possível identificar que, para as 3 pastas de hidróxido de cálcio, ocorreu uma redução nos escores de avaliação de 7 para 30 dias (ANOVA-2 vias). As pastas UltraCal, Calcicur e controle mantiveram-se com pH acima de 12 em todos tempos testados. A dissociação em íons cálcio e hidroxila, das pastas controle e Calcicur, aconteceu de forma mais rápida, até 45 dias, em função do veículo aquoso. As 3 pastas estudadas mostraram ser biocompatíveis em todos os períodos avaliados.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the release of calcium ions and pH of three calcium hydroxide pastes: UltraCal XS, CalciCur and aqueous paste besides evaluating the tissue's response in subcutaneous conjunctive tissue extracted from the dorsal part of Wistar rats in the period of 7 and 30 days. The analysis of the calcium present in the pastes was performed using a spectrophotometer by atomic absorption. A pHmeter was employed to read the measured pH. The pH and calcium release measurements were performed in the experimental times of 1 hour and 1, 2, 3, 7, 15, 30, 45 and 60 days. For the biocompatibility response 18 Wistar rats were used, on which were inserted into the dorsal subcutaneous tissue polyethylene tubes containing each one the three pastes, in the periods of 7 and 30 days. The results showed significant differences between the pH and calcium release of the pastes considering the values from starting time, minimum and maximum values, and when comparing the final and starting values (delta). The results showed higher pH and calcium release to the control paste and CalciCur respectively when compared to UltraCal (ANOVA- one way). On the biocompatibility experiment, statistically significant differences were not observed among the three tested materials in the periods of 7 and 30 days. Nevertheless, considering the cellular events, it was possible to identify that for all three calcium hydroxide pastes there was an evaluation score reduction from 7 to 30 days (ANOVA-two ways). Ultracal, CalciCur and the control paste maintained the pH above 12 during all times. The calcium and hydroxyl ions from the control paste and CalciCur presented a faster ionic dissociation, up to 45 days due to the aqueous vehicle. The biocompatibility of the three pastes was observed in the evaluated observation times.