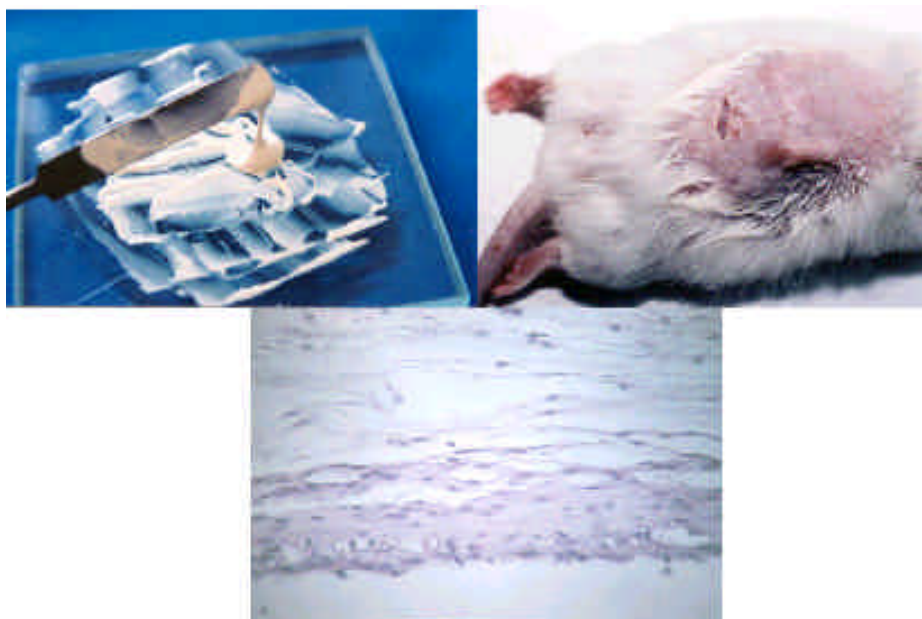


FÁBIO TOBIAS PERASSI

**RESPOSTA TECIDUAL AO CIMENTO
ENDODÔNTICO RESINOSO ENDOREZ[®] E
UM CIMENTO EXPERIMENTAL
DERIVADO DO POLÍMERO DE MAMONA
COMPARADOS AO ENDOFILL[®] E
SEALAPEX[®]. ESTUDO MORFOLÓGICO**



**ARARAQUARA
2004**

FÁBIO TOBIAS PERASSI

**RESPOSTA TECIDUAL AO CIMENTO
ENDODÔNTICO RESINOSO
ENDOREZ[®] E UM CIMENTO
EXPERIMENTAL DERIVADO DO
POLÍMERO DE MAMONA
COMPARADOS AO ENDOFILL[®] E
SEALAPEX[®]. ESTUDO MORFOLÓGICO**

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

***Orientador:* Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho**

**ARARAQUARA
2004**

Perassi, Fábio Tobias

Resposta tecidual ao cimento endodôntico resinoso EndoREZ e um cimento experimental derivado do polímero de mamona comparados ao Endofill e Sealapex. Estudo morfológico. / Fábio Tobias Perassi. – Araraquara : [s.n.], 2004.

117 f. ; 30 cm.

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

Orientador : Prof. Dr. Idomeo Bonetti Filho.

1. Materiais biocompatíveis 2. Ricinus communis
3. Endodontia I. Título.

Dados Curriculares

FÁBIO TOBIAS PERASSI

NASCIMENTO 05.09.1962 – Lins/SP

FILIAÇÃO Ireno Perassi

Jacy Moysés Tobias

1980/1984 Curso de Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Lins-SP.

1989/1990 Curso de Especialização em Endodontia pela Escola de Aperfeiçoamento Profissional do Norte do Paraná-Londrina/PR.

1992/2004 Contratado pela Faculdade de Odontologia de Lins, hoje Universidade Metodista de Piracicaba-UNIMEP, Campus Lins, na função de docente.

1998/2000 Curso de Pós-Graduação em Endodontia, nível de Mestrado, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

2002/2004 Contratado pelo Curso de Odontologia das Faculdades Adamantinenses Integradas-FAI, na função de docente.

Dedicatória

A **Deus** de infinitos olhos e
infinitos ouvidos, que tudo
vê e tudo ouve.

À minha mãe **Jacy** pela
filosofia de vida, pelo amor e pela
sua dedicação e incentivo.

À **Lúcia** pela compreensão,
e pela presença em todos os
momentos.

À **Isabela** pela alegria,
pureza e que um dia possa
entender o porque vivo por ela.

Agradecimentos

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara**, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” pela minha formação.

Ao meu orientador **Professor Dr. Idomeo Bonetti Filho** que através de seus gestos, atitudes e sabedoria, formou um discípulo e admirador.

À minha sempre amiga e orientadora **Professora Dra. Lizeti Toledo de Oliveira Ramalho** que me fez enxergar nas dificuldades o valor e a recompensa final de tudo que na vida fazemos.

Ao **Professor Dr. Mario Roberto Leonardo,** humano, sensível, sensato, conhecedor do mundo e da natureza humana, um pesquisador, um orientador, um exemplo para quem almeja ser, um dia, um ser humano de valor.

Ao **Professor Dr. Roberto Miranda Esberard, Professor Dr. Renato de Toledo Leonardo, Professor Dr. Mario Tanomaru Filho e Professor Dr. Fábio Luiz de Camargo Villela Berbert** meu respeito pelo aprendizado, companheirismo, amizade, e atenção que me devotaram.

Ao **Professor Dr. Jaime Maurício Leal,** pela conduta, conhecimento, confiança, acolhida e amizade.

Ao **Professor Dr. Celso Kenji Nishiyama,** que tornou possível a aplicação dos conhecimentos por mim adquiridos, acreditando, incentivando e me acolhendo em sua equipe.

Aos **Professores do Curso de Pós-Graduação**, pelo conhecimento, apoio e amizade a mim dedicado.

Aos amigos **Pedro Sérgio Simões** e **Luís Antônio Potenza** do Departamento de Histologia pela descontração, paciência e dedicação.

Ao Sr. **Pedro Decário** da Disciplina de Endodontia, pela sua dedicação e amizade.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP, em especial a **Mara Cândida Munhoz do Amaral**.

À **Célia Regina Fanchine Sanches Silva**, pela paciência, ajuda, atenção e amizade.

Aos **Funcionários da Biblioteca**,
pela atenção, educação e ajuda nos momentos de
dificuldade e nas alegrias, em especial a **Maria
José Perón**.

Aos **Colegas do Curso de
Pós-Graduação em Endodontia** do
Mestrado e Doutorado da Faculdade de
Odontologia de Araraquara-UNESP.

À Faculdade de Odontologia de Lins-UNIMEP, pelo
apoio, em especial ao incentivo dos Professores Doutores
**Carlos Wagner de Araújo
Werner, Valdir Golveia,
Nicácio Garcia Hernandes,
Miguel Carlos Madeira, Marco
Pólo Marchese, Mitsuru Ogata
e José Assis Pedroso**.

A **todas pessoas** que direta ou indiretamente
influenciaram a realização deste trabalho, meu respeito e
admiração.

Sumário

Introdução.....	10
Revisão da literatura.....	14
Proposição.....	42
Material e método.....	43
Resultado.....	50
Discussão.....	80
Conclusão.....	92
Referências.....	93
Anexos.....	112
Resumo.....	116
Abstract.....	117

Introdução

O tratamento endodôntico é uma microcirurgia aplicada num campo sem visualização direta onde, o conhecimento da anatomia, complementado pela radiografia para diagnóstico do caso sob tratamento, é imprescindível para formarmos mentalmente o “campo de ação” do endodontista (LEONARDO⁵⁸, 1998).

Estabelecido o diagnóstico correto, a partir do qual podem ser empregadas diferentes terapias e aplicando-se os princípios de assepsia e anti-sepsia, inicia-se a abertura coronária, a qual deve permitir um acesso direto e amplo aos canais radiculares. Para o esvaziamento, limpeza e modelagem dos mesmos, realiza-se o preparo biomecânico, que deve ser empregado através de meios químicos, físicos e mecânicos, preparando-o para receber o “curativo de demora” quando indicado e/ou o material obturador (LEONARDO; SILVA⁶¹, 1998).

Das fases operatórias, a etapa da obturação deve merecer especial atenção, uma vez que, serão introduzidos nos canais radiculares materiais que poderão ficar em contato permanente com os tecidos apicais e periapicais.

Obturar o sistema de canais radiculares significa preenchê-lo com um material que sele permanentemente, da maneira mais hermética possível, não interferindo e, de preferência, estimulando o processo de reparo apical e periapical que deve ocorrer após o tratamento endodôntico radical (LEAL⁵⁶, 1988).

Trabalhos têm demonstrado que o melhor material obturador dos canais radiculares ainda é a guta-percha, apesar de sua característica levemente irritante em função da presença de óxido de zinco na sua composição (MOORER; GENET⁷⁴, 1982; PASCON et al.⁸¹, 1991). No entanto, as propriedades físicas da guta-percha não permitem que o canal seja hermeticamente selado, havendo a necessidade da utilização de um cimento obturador com a finalidade de preencher os espaços remanescentes entre as paredes irregulares do canal radicular e o material sólido representado pelo cone de guta-percha (CAICEDO; VON FRAUNHOFER¹³,

1988; MARSHAL; MASSLER⁶⁹, 1961; SPANGBERG; LANGLAND¹⁰¹, 1973; STEWART¹⁰³, 1958; WIENER; SHILDER¹¹⁴, 1971; YOUNIS; HEMBRE¹¹⁸, 1976).

Assim sendo, para se realizar as obturações dos canais radiculares é de grande importância escolher um cimento, o qual deve apresentar certas propriedades esperadas, como estabeleceu Fisher²⁸, em 1927, e complementadas por inúmeros autores (BERBERT et al.⁸, 1980; DE DEUS²¹, 1976; INGLE⁴⁹, 1979; LEAL⁵⁶, 1988). Assim temos, dentre as propriedades biológicas: apresentar boa tolerância tecidual, ser reabsorvido no periápice, em casos de extravasamentos acidentais, estimular ou permitir a deposição de tecido mineralizado no nível do ápice e ter ação antimicrobiana. Dentre as propriedades físico-químicas: ser de fácil inserção, ser plástico no momento da inserção, tornando-se sólido posteriormente, possuir bom tempo de trabalho, propiciar um bom selamento em todos os sentidos, não deve sofrer contrações, não deve ser permeável, possuir bom escoamento, possuir boa viscosidade e aderência, não ser solubilizado dentro do canal radicular, possuir pH próximo ao neutro, ser radiopaco, não manchar as estruturas dentais, ser passível de esterilização e ser de fácil remoção.

É difícil reconhecer qual das propriedades é a mais importante, pois um cimento endodôntico pode preencher as propriedades físico-químicas, mas ser irritante aos tecidos apicais e periapicais. O mesmo ocorre com o material bem tolerado por esses tecidos, porém sem condições de propiciar um bom selamento dos canais radiculares. Desta maneira, um cimento ideal seria aquele que englobasse os principais aspectos de cada propriedade.

Para evitar maiores consequências com a fabricação de novos cimentos endodônticos, existem normas da *International Standard-ISO*⁵¹, de 1997, e do documento nº 41 da *American Dental Association/American National Standards Institute-ADA/ANSI*¹⁰² de 1982, para avaliação biológica através de testes específicos em medicamentos e materiais dentários. Diferentes metodologias, apresentando resultados controversos, foram propostas, avaliando cimentos obturadores de canais radiculares por meio de implantes em tecido subcutâneo de cobaias, de diferentes

maneiras, tais como em tubos de dentina humana (MAURÍCIO⁷⁰, 1980; PROVÊNCIO⁸⁹, 1982), tubos de teflon (ECONOMIDES et al.²³, 1995), através de tubos de polietileno (COSTA et al.¹⁷, 2003; HOLLAND et al.⁴¹, 1971; MOLLOY⁷³, 1992; TORNECK¹⁰⁹, 1961; TORNECK¹¹⁰, 1966), em tubos de silicone (ZMENER et al.¹²⁰, 1990), em lamínulas de vidro (CAMARGO¹⁵, 1993), ou diretamente no tecido ósseo (PERTOT et al.⁸⁷, 1992), em cultura de células L929 (ERSEV et al.²⁴, 1999), através da liberação de cromo (BARBOSA et al.⁶, 1993), por meio do teste *Skin Window* (BERBERT; CONSOLARO⁹, 1994), através da liberação de peróxido de hidrogênio (LEONARDO⁶⁵, 1997), liberação de óxido nítrico (QUEIROZ⁹¹, 1997), liberação de fator de necrose tumoral alfa (PERASSI⁸⁶, 2000).

A busca por novos cimentos endodônticos é intensa e motiva o estudo das propriedades dos materiais já existentes e a pesquisa pelo desenvolvimento de novos materiais. Em 1984, o Professor Doutor Gilberto O. Chierice, do grupo de Química Analítica e Tecnologia de Polímeros da Universidade de São Paulo – São Carlos, desenvolveu uma nova poliuretana vegetal extraída de *Ricinus communis* (óleo de mamona), oleaginosa da classe Dicotiledônea, ordem Geraneaceae e família Euforbaceae, a qual vêm mostrando resultados promissores na Medicina (Ortopedia e Cirurgia Plástica), com possibilidade de aplicação na Odontologia, por apresentar biocompatibilidade, osseointegração, por ser germicida, bactericida e atóxico (CALIXTO et al.¹⁴, 2001; COSTA et al.¹⁹, 1997; FERREIRA et al.²⁶, 2002; IGNÁCIO⁴⁸, 1995; PASCON et al.^{82,84}, 2000; PASCON et al.⁸³, 2001; PURICELLI et al.⁹⁰, 1999; SILVA et al.⁹⁶, 1997; VILARINHO et al.¹¹³, 1996).

Visando acrescentar informações sobre a biocompatibilidade do polímero de mamona (Poliquil*) e possibilidade de uso em áreas específicas da Odontologia, como na Endodontia, o presente trabalho tem por objetivo avaliar histologicamente, a resposta tecidual desse material acrescido de um agente radiopacificador, em tecido conjuntivo subcutâneo de camundongos durante 7 e 50 dias após implantação de tubos de polietileno e, um novo cimento endodôntico

* Poliquil Araraquara Polímeros Químicos Ltda. Araraquara, SP, Brasil

resinoso lançado no mercado (EndoREZ^{*}), comparados aos cimentos Sealapex^{**} e Endofill^{***}, já consagrados pela literatura e pelo uso clínico.

^{*} Ultradent Products, Inc., South Jordan, Utah, USA

^{**} Sybron Kerr Indústria e Comércio Ltda., Guarulhos, SP, Brasil

^{***} Dentsply HERO Indústria e Comércio Ltda., Petrópolis, RJ, Brasil

Revisão da literatura

Implante subcutâneo

Os testes secundários, recomendados pela *International Standard-ISO*⁵¹, têm como finalidade eliminar qualquer produto em potencial ou componente de um produto, que possa causar dano ou prejuízo aos tecidos orais ou maxilofaciais. Neste nível, o produto é avaliado pelo seu potencial em criar toxicidade sistêmica, toxicidade quanto à inalação, irritação e sensibilidade na pele, e reação a implantes (ANUSAVICE³, 1998).

As normas divulgadas desde 1972 pela *American Dental Association-ADA*², consideram os métodos de implante como testes válidos nas etapas preliminares da pesquisa da histocompatibilidade de diversos materiais, dentre eles, os utilizados na obturação dos canais radiculares.

O uso de técnicas de implantação *in vivo*, também leva em consideração as características físicas do produto, como forma, densidade, dureza e acabamento superficial, que podem influenciar na caracterização da reação do tecido (ANUSAVICE³, 1998).

A espécie animal é selecionada de acordo com o tamanho da amostra do teste de implante e conforme a duração prevista do teste em relação ao período de vida do animal. Para testes de curta duração (de mais ou menos 12 semanas) em tecido subcutâneo ou músculo, são comumente usados camundongos, ratos, *hamster*, porquinhos-da-índia e coelhos. O uso desses animais é o enfoque mais conservador, considerando as preocupações ecológicas atuais (ANUSAVICE³, 1998).

Os implantes subcutâneos têm sido utilizados desde longa data. Dixon e Rickert²², 1933, avaliaram 14 diferentes materiais dentários usados em restaurações e cirurgias parodontológicas, implantando 154 corpos de prova em subcutâneo e 47 no músculo de coelhos, por períodos de até seis meses, interpretando as reações como nenhuma evidência microscópica de reação tecidual, inflamação crônica, inflamação crônica com reação de células gigantes de corpo estranho, inflamação crônica com células gigantes e fagocitose do material, inflamação crônica ativa e inflamação crônica purulenta. Amálgama de cobre foi o mais irritante, seguido em ordem decrescente de severidade por cobre, bálsamo, resina, amálgama de prata, óxido de zinco, prata, fio de prata, um cimento endodôntico e porcelana.

Mitchell⁷¹, em 1959, implantou vinte e dois corpos de prova de materiais dentários em triplicata em subcutâneo de setenta e cinco ratos *Wistar*, analisando a partir de dois dias, duas semanas e quatro semanas as reações inflamatórias, classificando-as como leve, moderada ou severa. Os materiais que apresentaram reações severas, foram amálgama de cobre, cimentos com cobre e o óxido de zinco e eugenol mais óleo de croton.

Torneck¹⁰⁹, em 1961, desenvolveu, pela primeira vez, um método de implante de tubos de polietileno, contendo drogas anti-sépticas de uso endodôntico, no subcutâneo de rato. Os tubos, de 10mm de comprimento e 1,5mm de diâmetro, eram obliterados nas suas extremidades por resina acrílica e continham duas perfurações laterais. Foram injetados 10 tipos de drogas diferentes nos tubos, sendo os mesmos implantados no dorso de rato. Após 48 e 96 horas de observação, os animais foram mortos e os espécimes processados histologicamente. O autor concluiu que todas as drogas produziram injúria celular de graus variados e que uma droga verdadeiramente não irritante para uso endodôntico ainda não tinha sido introduzida no arsenal do uso diário da clínica.

Torneck¹¹⁰, 1966, estudou as reações do tecido conjuntivo de ratos frente à implantação de tubos de polietileno de diversos diâmetros internos, com a finalidade de serem utilizados com veículos para materiais a serem testados. Foram introduzidos tubos de 0,58, 0,86, 1,14 e 1,40mm de diâmetro, com comprimento de 4, 6 e 10mm. Um grupo de animais recebeu os tubos abertos nos dois lados e outro recebeu os tubos com um dos lados fechado, mantidos por 60 dias. Os resultados mostraram que os tubos estavam envolvidos por uma cápsula de tecido fibroso, sem inflamação. Esse tecido apresentava uma maturação maior que o tecido subcutâneo normal adjacente e continha numerosos fibroblastos e quantidade abundante de fibras. O autor concluiu que o material é bem tolerado pelo tecido subcutâneo e poderia ser utilizado como portador de materiais para teste.

Kaminski et al.⁵², em 1968, testaram metais em coelhos, implantando-os no subperiósteo, na calvária, na mandíbula e em músculos. Eles concluíram que a mandíbula era um sítio excelente para o estudo de compatibilidade de materiais em tecido duro e mole.

Holland et al.⁴¹, em 1971, estudaram o comportamento do tecido conjuntivo subcutâneo de rato ao implante de alguns materiais obturadores de canal radicular, variando a proporção pó-líquido dos materiais experimentais. Utilizaram para esse estudo 120 ratos machos, pesando entre 100 a 120 gramas, os quais foram submetidos à anestesia por inalação de éter sulfúrico. Com o auxílio de uma tesoura de ponta romba, confeccionaram um corte longitudinal na região do dorso do animal, e com o auxílio de uma espátula número 7, realizaram a divulsão no tecido celular subcutâneo, em sentido bilateral, padronizando-o com aproximadamente dois centímetros. Tubos de polietileno contendo os materiais em teste foram implantados bilateralmente nas lojas cirúrgicas preparadas. Os animais foram mortos após intervalos de tempo de 5, 10 e 30 dias. A seguir, as peças foram removidas cirurgicamente, fixadas em formalina a 10%, incluídas em parafina e cortadas semi-

seriadamente com espessura de 6 micrômetros, sendo os cortes histológicos corados com Hematoxilina e Eosina. Dentre os materiais estudados (hidróxido de cálcio, óxido de zinco e eugenol, composto de Rickert, composto de Wach, Cloropercha, Alfa Canal e Pyocidina), os autores concluíram que o hidróxido de cálcio e o composto de Rickert foram os que apresentaram melhor comportamento biológico. A mais severa resposta inflamatória foi para o óxido de zinco e eugenol.

Olsson et al.⁷⁷, em 1981, testaram o método do implante subcutâneo no dorso de ratos e os seguintes materiais: Kloropercha NO, Kerr Sealer e AH 26. Os tempos de observação foram de 14, 30, 90 e 180 dias. Os resultados mostraram aos 14 dias tecido necrótico e numerosos neutrófilos, se desintegrando adjacentes aos três materiais. Linfócitos, plasmócitos, macrófagos e células gigantes de corpo estranho invadiram o tecido que circundava o implante, na entrada do tubo. Aos 30 dias, o padrão inflamatório era similar ao de 14 dias. Células agudas e crônicas estavam presentes e partículas do material foram encontradas em macrófagos e células gigantes de corpo estranho. Aos 90 dias, havia predominância de células inflamatórias crônicas, com necrose tissular e desintegração celular adjacente aos três materiais, mas uma camada fibrosa aparecia junto à inflamação e o material. Aos 180 dias, a inflamação crônica persistia e uma zona de necrose estava presente junto ao material e uma camada de células em desintegração adjacente a esta. A Kloropercha NO apresentou os melhores resultados, seguido do AH 26 e do Kerr Sealer. Os autores concluíram que o implante subcutâneo é um método prático para a avaliação qualitativa dos materiais endodônticos, podendo fornecer informações detalhadas e com exatidão sobre a reação material/tecido no nível celular. Entretanto, a quantificação da resposta do tecido somente é possível quando os materiais apresentam graus de irritação extremamente diferentes.

Görduysus et al.³⁰, em 1998, avaliaram *in vivo* as reações teciduais de um cimento endodôntico à base de silicone, chamado Endofill, introduzido na endodontia

em 1984, composto de monômero de silicone e subnitrato de bismuto. Através de implantes de tubos de polietileno em subcutâneo de ratos, avaliaram após 2 dias, e 1, 2, 3, 4 e 8 semanas. Quatro tubos foram implantados em cada animal. Aos 2 dias, moderada inflamação e exsudação no tecido, sem formação de colágeno. Aos 7 dias a inflamação diminuiu, assim como a exsudação, e uma leve proliferação fibroblástica foi observada com formação colágena. Aos 14 dias a inflamação e a proliferação fibroblástica era semelhante aos 7 dias porém sem exsudação. Aos 28 dias, a inflamação estava ausente e as demais características semelhantes aos 14 dias. Finalmente, aos 56 dias uma pequena fibrose foi observada ao redor do implante sem formação de cápsula fibrosa.

Polímero de mamona

Penna⁸⁵, em 1921, descreveu a mamona como planta de origem brasileira, com os seguintes sinônimos: *Ricinus communis*, *Rícino*, *Carrapateiro*, *Ricinus africanus*, *Ricinus europeus*, *Ricinus laeris*, *Ricinus lividus* e *Ricinus virides*.

A mamona (*Ricinus communis*, da classe Dicotiledônea, ordem Geraneales e família Euphorbiaceae) constitui um vegetal típico de clima tropical, e o Brasil, devido as suas características climáticas e por sua grande extensão territorial, apresenta-se como uma das grandes reservas mundiais deste produto.

A mamona possui um grande potencial óleoquímico, podendo garantir o fornecimento de polióis e pré-polímeros a partir de ácidos graxos em larga escala. O óleo de mamona, também conhecido como óleo de rícino, é um produto de origem vegetal contendo, em sua composição, de 81% a 96% de triglicerídeo do ácido

ricinoléico, podendo ser considerado um poliol natural por conter radicais hidroxilas passíveis de serem utilizados na síntese de poliuretanas.*

Estruturalmente, o óleo de mamona possui três moléculas do ácido 12-hidroxi-oléico (ou ricinoléico), sendo que cada uma delas apresenta um grupo hidroxila no carbono 12. Os polióis vegetais à base do ácido ricinoléico são bastante estáveis em função da maior estabilidade química das ligações uretanas, que apresentam maior resistência à reação hidrolítica. A química envolvida na síntese da poliuretana está baseada nas reações com o grupo isocianato. A reação de pré-polimerização para a formação da poliuretana é feita entre um diisocianato e um poliol, de maneira a deixar grupos isocianatos livres no produto final. O pré-polímero é um líquido viscoso com menos reatividade do que o diisocianato de partida. A reação de polimerização final com o pré-polímero para a formação da poliuretana pode ser feita com um diol, diamina ou ainda um poliol. Os polióis utilizados na síntese de poliuretanas são moléculas de alto peso molecular, contendo dois ou mais radicais hidroxilas, apresentando-se geralmente na forma de poliéster e poliéter. A poliuretana é derivada do poliol poliéster, obtido a partir de ácido graxo vegetal e difenilmetanodiisocianato.*

A poliuretana derivada do óleo de mamona apresenta uma fórmula molecular que tem mostrado certa compatibilidade com os tecidos vivos, apresentando: aspectos favoráveis de processamento (resultam de operações simples e com produtos facilmente encontrados em derivados de óleos vegetais e derivados petroquímicos), flexibilidade de formulação (capacidade de combinação com outros tipos de resinas), versatilidade de temperatura de cura e controle de pico exotérmico na transição líquido-gel (a ligação uretana – poliuretanas com diisocianatos – pode ser submetida à cura em temperatura ambiente ou com elevação da temperatura, podendo o processo de endurecimento – cura – ser alterada por catalisadores tipo animais ou organometálicos de estanho, mercúrio, cobre e cromo), excelentes

* CHIERICE, G.O. – Comunicação pessoal. Instituto de Química USP – São Carlos. 1996.

propriedades estruturais (ligações químicas características de isocianatos com polióis), ausência de emissão de vapores irritantes ou tóxicos (a cura da resina uretana é limpa e não poluente), bom poder de adesão, não liberam radicais tóxicos quando implantada, e o baixo custo.*

Chierice*, 1994, constatou que a poliuretana de mamona pode ser utilizada na forma pura ou em associação com o carbonato de cálcio, apresentando uma reação exotérmica pequena atingindo 42-45°C e, em contato com o meio líquido, há aumento de volume por reação primária com a água.

Ignácio⁴⁸ em 1995, verificou a neoformação óssea e integração do cimento derivado da poliuretana de mamona no preenchimento de falhas ósseas produzidas nos raios de coelhos machos, com idade variando entre 8 a 10 semanas de vida, pesando aproximadamente 2kg. Os animais foram divididos em quatro grupos, de acordo com o período de análise em 2, 4, 8 e 16 semanas, fazendo-se o estudo radiológico, macroscópico e histológico em cada tempo de observação. Um grupo controle composto por seis animais, onde a falha osteoperiosteal de 2 centímetros bilateralmente era deixada sem preenchimento, também foi estudado. Uma análise dos resultados demonstrou que, apesar da membrana interóssea potente e de um forte sistema ligamentar que une os dois ossos, todos os segmentos do grupo controle tiveram perda do alinhamento do membro (deslizamentos epifisários e fraturas), ao contrário dos antebraços onde a falha osteoperiosteal produzida foi preenchida com o cimento derivado do polímero de mamona, que suportou bem as forças mecânicas exercidas pela marcha normal. Radiograficamente, os animais que receberam os implantes do material, houve, na quase totalidade dos casos, união sólida das interfaces cimento/osso proximal e distal. O osso neoformado, a partir das interfaces ósseas, proximal e distal, praticamente uniu-se na região central do enxerto nos períodos finais do estudo, visualizando-se, em alguns casos, a formação de uma cortical óssea delgada e esboço de um canal medular. Histologicamente, não foi

* CHIERICE, G.O. – Comunicação pessoal. Instituto de Química USP – São Carlos. 1996.

verificada a presença de células gigante de corpo estranho que pudesse indicar qualquer grau de toxicidade do material. O processo de neoformação óssea foi gradual, progressivo e organizado a partir das interfaces cimento/osso proximal e distal em direção à região central do material, iniciando-se por um processo inflamatório decorrente de uma agressão produzida pelo ato cirúrgico, processo este que diminuiu paulatinamente. A formação fibroblástica foi substituída por lamelas ósseas ao longo do tempo, que praticamente uniu-se na região central do cimento no grupo de avaliação mais longo (16 semanas). Foi também observada a formação de uma cortical fina e um neoperiósteo cobrindo o tecido ósseo neoformado.

Ohara et al.⁷⁵, 1995, estudaram experimentalmente a biocompatibilidade da poliuretana de mamona implantada intra-óssea e intra-articularmente em coelhos, respectivamente na forma de corpos-de-prova com cálcio e em gel. Foram utilizados 15 coelhos adultos da raça *New Zealand*, divididos em três grupos: grupo A – três dias; grupo B – 15 dias e grupo C – 40 dias de observação. O corpo-de-prova em forma de gel foi implantado intra-articular no joelho esquerdo e o calcificado, em forma de cilindro de 0,5cm, no côndilo medial do joelho esquerdo. A análise das articulações dos coelhos mostrou presença de sinovite e derrame sinovial estéril no grupo A e resolução desses processos nos grupos B e C, demonstrando ausência de reação inflamatória tardia ou granulomatosa, do tipo corpo estranho. No côndilo medial do grupo A, observou-se reação fibrosa ao redor do implante ósseo, do tipo “pseudo-encistamento”, que evoluiu nos grupos B e C com transformação para neoformação óssea, preenchendo inclusive as lacunas internas do corpo-de-prova. A ausência de alterações do comportamento dos animais e a ausência de alterações patológicas nas vísceras (fígado, baço e rins) demonstraram a não toxicidade da resina de mamona. Este estudo permitiu concluir que, em coelhos, a resina de mamona não é tóxica, não produz reação inflamatória tardia da sinovial e, quando implantada no osso, produz reação fibrosa que evoluiu para neoformação óssea, sem sinais de rejeição.

Araújo et al.⁵, em 1996, avaliaram histológica e histometricamente o processo de cicatrização alveolar de dentes de ratos extraídos após o implante de um poliol natural derivado de mamona. Os implantes eram colocados imediatamente após a extração do incisivo superior direito, e os períodos para observação histológica foram de 7, 15, 21 e 42 dias pós-operatório. Foi realizado grupo controle, sem utilização do polímero, nos mesmos períodos experimentais. Os resultados obtidos apresentaram uma progressiva neoformação óssea, paralelo a um decréscimo de volume de tecido conjuntivo e cápsula fibrosa ao redor do implante, nos períodos experimentais.

Teixeira, et al.¹⁰⁸, em 1996, estudaram a neoformação óssea basal da mandíbula de 40 ratos, após confecção do defeito ósseo e preenchimento com poliuretana vegetal acrescido de carbonato de cálcio. Aos 15, 25, 40 e 60 dias após a cirurgia, os animais foram mortos, as peças processadas laboratorialmente, e analisadas pela microscopia óptica. Os resultados mostraram grande aceitação orgânica à resina, não contendo formação de cápsula, tampouco migração local de células inflamatórias, além do carbonato de cálcio funcionar como indutor, promovendo neoformação óssea, estimulando o aparecimento de células osteogênicas.

Vilarinho et al.¹¹³, em 1996, realizaram estudos com o objetivo de verificar a reação dos tecidos oculares de camundongos, frente ao implante da poliuretana com ou sem carbonato de cálcio. Fragmentos do material foram colocados na câmara anterior do olho dos camundongos. Após morte dos animais e processamento laboratorial de rotina, microscopicamente, observaram um processo inflamatório inicial que diminuiu conforme aumentava o período pós-cirúrgico. O material, acrescido ou não de carbonato de cálcio, foi bem tolerado pelo leito receptor, sendo as reações teciduais semelhantes. A presença de células

multinucleadas, principalmente nos dois primeiros períodos, pode favorecer a reabsorção do material.

Costa et al.¹⁹, em 1997, testaram a biocompatibilidade da poliuretana derivada de mamona, colocada em tubos de polietileno, que foram implantados no dorso de ratos por períodos de observação de 7, 15, 30 e 60 dias. O material foi comparado com o óxido de zinco e eugenol (OZE). Aos 7 e 15 dias, a poliuretana promoveu moderada reação inflamatória com predomínio de células mononucleares, novos vasos sanguíneos e degradação do colágeno. Esses eventos histopatológicos foram menos relevantes para o OZE. Com o decorrer dos períodos, notaram regressão dos eventos inflamatórios e reparação junto à abertura dos tubos. Aos 30 e 60 dias, um tecido denso envolvia o tubo de polietileno, sendo que para ambos os materiais, o tecido conjuntivo adjacente apresentava características histológicas de normalidade. O OZE foi menos irritante que a poliuretana quando implantado, porém os materiais apresentaram biocompatibilidade aceitável.

Silva et al.⁹⁶, em 1997, avaliaram o comportamento do tecido ósseo frente ao implante do polímero de mamona em raios de coelhos, pela análise quantitativa da radiopacidade nas imagens radiográficas convencionais. Utilizaram critérios de radiopacidade pré-estabelecidos para estruturas anatômicas presentes nas áreas de interesse das imagens, obtidas dos defeitos ósseos induzidos (controle com coágulo sanguíneo) e teste (com polímero de mamona) nos períodos de 15, 30, 90 e 120 dias. Apenas para elucidar a radiopacidade do polímero de mamona, em escores, o metal pontuou escore 10, e a ausência total de radiopacidade, relativa ao ar, recebeu escore zero. Nessa escala, a cortical óssea apresentou valores entre 7 e 10, tecido mole entre zero e três, e polímero de mamona entre 3 e cinco. Pelas análises quantitativas das radiopacidades pré-estabelecidas, concluíram que as radiografias convencionais padronizadas e com qualidade são excelentes meios para investigação não invasiva do comportamento biológico do tecido ósseo, e o critério desenvolvido, sistematiza e

confere reprodutibilidade aos estudos radiográficos do processo de reparo ósseo e das relações de interface na pesquisa de materiais aloplásticos, substitutos ósseos biocompatíveis.

Teixeira et al.¹⁰⁷, em 1999, verificaram a reação à resina vegetal de mamona sem carbonato de cálcio durante o processo de reparo em defeitos ósseos induzidos no corpo da mandíbula. Usaram 40 ratos, nos quais foram realizados defeitos ósseos no corpo da mandíbula os quais foram preenchidos com poliuretana vegetal sem carbonato de cálcio e o grupo controle que não recebeu qualquer tratamento. Decorridos 15, 25, 40 e 60 dias após a cirurgia, e utilizando a coloração de rotina com Hematoxilina e Eosina e Tricrômico de Mallory, os resultados mostraram grande aceitação orgânica à resina, não ocorrendo formação de cápsula, tampouco migração local de células inflamatórias, comprovando a biocompatibilidade do material.

Ferreira et al.²⁵, em 1999, ao compararem *in vivo* a atividade antimicrobiana do gel de papaína 0,4%, detergente de mamona 10% e hipoclorito de sódio 0,5% em dentes com polpa necrosada, demonstraram que as duas últimas substâncias apresentaram atividades antimicrobianas semelhantes na diminuição de agentes anaeróbios, estafilococos e estreptococos.

Pascon et al.⁸⁴, em 2000, compararam a citotoxicidade do polímero de mamona (Poliol) com quatro cimentos endodônticos (AH 26, Dentinol, Kerr Sealer e Sealapex). O método utilizado *in vitro* foi o de liberação de cromo radioativo em cultura de células L929. Analisaram cada material por 4 e 24 horas de contato material/células, imediatamente após a sua manipulação, e 24 e 60 horas após a presa. Observaram em ordem decrescente de toxicidade, em 4 horas de contato: Kerr, AH 26, Dentinol, Sealapex, Polioli. Em 24 horas de contato: AH 26, Dentinol, Sealapex, Kerr e Polioli. Em 24 horas após a presa: Kerr, Dentinol, Sealapex, Polioli,

AH 26. Em 60 horas após a presa: Kerr, Sealapex, Polioli, AH 26 e Dentinol. Esses resultados permitiram concluir que o Polioli apresentou condições para ser considerado como material obturador de canal radicular.

Pascon et al.⁸², em 2000, verificaram a resposta do tecido subcutâneo de cobaias à resina poliuretana derivada do óleo de mamona comparada com quatro cimentos endodônticos (AH 26, Dentinol, Kerr Sealer e Sealapex). O método utilizado foi o de implante subcutâneo de tubos de Teflon em 45 cobaias, as quais receberam quatro implantes dorsais com o mesmo material. Os períodos analisados foram 30, 60 e 90 dias. Após 30 dias, todos os materiais, com exceção do Polioli, mostraram reação inflamatória severa; com 60 dias, Dentinol, Sealapex, AH 26 e Kerr Sealer apresentaram as respostas mais severas, e o Polioli com reação de moderada a suave; aos 90 dias, a resposta inflamatória foi severa para todos os materiais, com exceção do Polioli, que foi suave. Portanto, de acordo com os critérios da *FDI* e *ADA/ANSI* o Polioli foi considerado um material compatível, devendo sua utilização como material de obturação de canal ser incentivada.

Calixto et al.¹⁴, em 2001, testaram a biocompatibilidade de uma resina natural, derivada do óleo de mamona, em forma de flocos irregulares colocados em alvéolos de ratos *Wistar* imediatamente após a extração dental, sendo os mesmos mortos após 1, 2, 3 e 6 semanas, comparando ao grupo controle (apenas coágulo). Ao final da primeira semana, os flocos da resina estavam circundados por tecido de granulação, com a presença de trabéculas ósseas imaturas formadas nas proximidades de sua superfície. A partir da segunda semana, maior quantidade de tecido ósseo em maturação foi observada ao redor dos flocos. No final do experimento, os autores puderam concluir que os flocos de resina mostraram-se biocompatíveis e capazes de certo grau de osseointegração direta.

Pascon et al.⁸³, em 2001, analisaram a resposta do tecido ósseo de cobaia à resina poliuretana derivada do óleo de mamona comparada com quatro cimentos endodônticos (AH 26, Dentinol, Kerr Sealer e Sealapex). Utilizaram 75 cobaias que receberam um implante de copo de teflon contendo os materiais testados de cada lado da sínfise da mandíbula após preparo cirúrgico das cavidades. Após 30, 60 e 90 dias, observaram presença ou ausência de necrose, frequência e intensidade de células inflamatórias agudas e crônicas, reabsorção do material e aposição de osso no copo, degeneração e desintegração de células inflamatórias, transporte do material em vasos e células, e alterações em vasos e nervos. Com 30 dias, a resposta inflamatória a todos os materiais variou de moderada a severa, mas com áreas de necrose, exceto para o Polioli; com 60 dias, o quadro inflamatório variava de moderado a severo para todos os materiais, com exceção do Polioli que variava de ausente a suave; e finalmente aos 90 dias, a inflamação variando de moderada a severa se repetiu para todos os materiais, com exceção do Polioli. De acordo com os critérios da *FDI* e *ADA/ANSI*, o Polioli foi considerado um material biocompatível, devendo sua utilização como material de obturação de canal ser incentivada.

Cimentos endodônticos

Holland e Souza⁴⁰, em 1985, visando testar a capacidade de um novo cimento obturador à base de hidróxido de cálcio (Sealapex) na indução da formação de tecido mineralizado, efetuaram estudo histológico, utilizando 160 canais radiculares de 8 cães com 2 anos de idade e 80 canais radiculares de 4 macacos adultos. A remoção da polpa radicular foi realizada em dois diferentes níveis, ou seja, 1mm aquém do ápice radiográfico ou ao nível do ápice radiográfico. Os canais foram obturados com cones de guta-percha e cimento Sealapex ou Kerr Pulp Canal Sealer, ou ainda pasta formada por hidróxido de cálcio e água destilada. Alguns canais

radiculares foram mantidos vazios no grupo controle. Após um período de 180 dias, os resultados observados em dentes de cães e macacos foram semelhantes e mostraram que o Sealapex e a pasta de hidróxido de cálcio e água destilada induziram o fechamento apical pela deposição cementária. Este selamento foi mais freqüente nos casos em que a pulpectomia foi realizada 1mm aquém do ápice radiográfico. Nos casos em que ocorreu extravasamento do material, tanto o Sealapex como o Kerr Pulp Canal Sealer provocaram reação inflamatória crônica no ligamento periodontal. Porém, com o Sealapex, freqüentemente ocorreu a deposição de tecido osteóide na área do extravasamento ou, então, onde ele era reabsorvido. O grupo controle mostrou alguns casos de fechamento apical, sugerindo que ele poderia ocorrer sem o uso de materiais obturadores, desde que a assepsia fosse mantida durante todo o tratamento.

Leal et al.⁵⁷, em 1988, estudaram a biocompatibilidade dos cimentos endodônticos CRCS, Sealapex, N-Rickert e Fill Canal. Os cimentos foram espatulados, colocados no interior de tubos de polietileno e implantados no tecido subcutâneo de um mesmo rato, em sistema de rodízio. Os períodos de observação foram 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 com o CRCS e Fill Canal essa reação foi intensa. Na fase final, houve uma diminuição do processo inflamatório, havendo, com o Sealapex, o CRCS e o N-Rickert, ocorrido discreta reação tecidual, enquanto que com o Fill Canal foi observada uma reação mais acentuada.

Em 1988, Tronstad et al.¹¹¹, avaliaram a solubilidade e a biocompatibilidade dos cimentos contendo hidróxido de cálcio, Sealapex e CRCS, de um cimento à base de óxido de zinco e eugenol convencional e de uma pasta de hidróxido de cálcio e soro fisiológico, acondicionados em cilindros de teflon,

posteriormente implantados em perfurações efetuadas no tecido ósseo da mandíbula de cães. Decorridos 90 dias, os animais foram sacrificados, os espécimes ósseos contendo os cilindros de teflon removidos, incluídos em parafina, seccionados e corados com Hematoxilina e Eosina. Os resultados da análise histopatológica mostraram que, no grupo da pasta de hidróxido de cálcio e soro fisiológico, ela havia sido completamente solubilizada, os cilindros foram preenchidos com tecido ósseo, não sendo observado processo inflamatório nos tecidos adjacentes. No grupo do cimento Sealapex, ele havia sido parcialmente solubilizado e, na maioria dos casos, substituído por tecido conjuntivo, com severa reação macrofágica e leve reação inflamatória. Em todos os casos analisados, o CRCS e o cimento de óxido de zinco e eugenol permaneceram nos cilindros, sem invaginação de tecido para o interior dos mesmos. Nenhuma reação macrofágica foi vista, porém severa reação inflamatória foi causada pelo CRCS, enquanto que reações inflamatórias suaves foram provocadas pelo cimento de óxido de zinco e eugenol.

Yesilsoy et al.¹¹⁷, em 1988, avaliaram a citotoxicidade de vários cimentos obturadores de canal radicular injetados em tecido subcutâneo de 12 porcos da Índia. Foram avaliados os cimentos de Grossman, Eucapercha, Endofill, CRCS, Sealapex e Hypocal, sendo utilizado, como controle a solução salina estéril. Após um período experimental de 6, 15 e 80 dias, os animais foram sacrificados e as peças obtidas coradas pela Hematoxilina e Eosina e pelo método de Von Kossa. A análise histológica mostrou que o Sealapex e o Endofill apresentaram menor reação inflamatória do que qualquer outro material testado. O cimento de Grossman, o CRCS e o Hypocal revelaram, predominantemente, reações inflamatórias severas em todos os períodos de tempo, exceto aos 80 dias. Calcificações difusas foram induzidas principalmente pelas preparações à base de hidróxido de cálcio, CRCS, Sealapex e Hypocal. Eucapercha e Endofill apresentaram reduzidas áreas localizadas de calcificação.

Tagger e Tagger¹⁰⁴, em 1989, efetuaram estudo histológico em dentes de macacos, com o objetivo de avaliar, a longo prazo, a resposta dos tecidos periapicais aos cimentos que contêm hidróxido de cálcio, CRCS e Sealapex, comparados ao cimento AH 26. Foram empregados incisivos e segundos pré-molares inferiores, os quais tiveram seus canais radiculares instrumentados e obturados com cones de guta-percha e os cimentos em estudo. Os animais foram sacrificados após um período de 7, 8 e 14 meses. Os resultados histológicos mostraram uma resposta inflamatória moderada a severa na região periapical das raízes obturadas com AH 26 e CRCS. A maior parte dos espécimes relativos ao Sealapex não apresentou células inflamatórias, exceto macrófagos com partículas do cimento obturador. Ainda com relação ao Sealapex, foi observada uma tendência à obliteração apical por tecido calcificado, aparentemente após a reabsorção do material obturador. Os autores ressaltaram que, apesar dos bons resultados obtidos com o Sealapex, tomam-se necessárias pesquisas adicionais, com o fim de testar o material em canais infectados. Sugeriram, ainda, que a capacidade do cimento de ser reabsorvido, era uma vantagem quando de sua substituição por tecido calcificado, sendo uma desvantagem a sua não-reabsorção.

Soares et al.⁹⁹, em 1990, analisaram a resposta dos tecidos periapicais a cimentos obturadores de canais radiculares que contêm hidróxido de cálcio. Testaram os cimentos Sealapex e CRCS, utilizando 120 canais radiculares de dentes de cães. Após a instrumentação dos canais radiculares, estes foram divididos em três grupos e obturados pela técnica da condensação lateral ativa, com cones de guta-percha e cimento CRCS, Sealapex ou óxido de zinco e eugenol, este usado como controle. Decorridos 30 e 180 dias, os animais foram sacrificados e as peças obtidas foram submetidas ao processamento histológico. Os cimentos Sealapex e CRCS causaram resposta tecidual periapical semelhante à encontrada com o cimento de óxido de zinco e eugenol, com resposta mais acentuada nos espécimes em que ocorreu extravasamento de material obturador. Nos casos em que o material obturador alcançava o “batente” apical, constatou-se invaginação de tecido conjuntivo com

células inflamatórias crônicas. A deposição de tecido duro com fechamento parcial da abertura apical foi observada para os três cimentos estudados. Nos grupos do Sealapex e CRCS, partículas de cimento foram vistas distante do ápice. Todos os casos de extravasamento levaram à reação inflamatória crônica dos tecidos apicais.

Zmener et al.¹²⁰, em 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 constituiu 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 após 7, 30 e 90 dias para a análise histométrica e quantitativa. O exame microscópico demonstrou diferentes reações teciduais 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.

Gulati et al.³⁶, em 1991, estudaram a resposta tecidual frente a dois cimentos endodônticos à base de óxido de zinco. Os materiais testados foram o óxido de zinco associado ao eugenol ou à glicerina. Os cimentos, após espatulados, foram injetados subcutaneamente em ratos. A resposta tecidual foi analisada pela contagem de células polimorfonucleares nos períodos de 1, 7 e 15 dias. Os resultados demonstraram que a toxicidade foi maior para os cimentos que continham eugenol e que era diminuída com o decorrer dos três períodos estudados. Para o cimento sem eugenol, a resposta tecidual foi mais suave, atingindo um pico aos sete dias e diminuindo após este período.

Molloy et al.⁷³, em 1992, avaliaram a tolerância tecidual de dois cimentos endodônticos resinosos, experimentais, um deles acrescido de prata, por meio de estudo comparativo com outros quatro cimentos: Sealapex, Kerr, AH 26 e cimento Roth. Os materiais, após manipulação, eram introduzidos em tubos de polietileno, os quais eram implantados no tecido subcutâneo de ratos. Decorrido os períodos de 3, 10, 20, 30 e 60 dias, os animais eram sacrificados e as peças obtidas preparadas para o exame histológico. A análise dos resultados mostrou que todos os cimentos demonstraram inicialmente inflamação suave, que cessou rapidamente. Em todos os tempos estudados, não ocorreu diferença entre os cimentos, exceto para o AH 26, que manteve algum edema até o período de 30 dias. Aos 60 dias, todos os materiais se mostravam compatíveis entre si.

Araki et al.⁴, em 1993, avaliaram microscopicamente a citotoxicidade de dois cimentos endodônticos à base de óxido de zinco. Os cimentos foram divididos em três grupos experimentais: recém-manipulados, 24 e 168 horas após a espatulação. A composição do pó era igual nos dois grupos, alterando-se apenas a parte líquida. Em um dos grupos foi utilizado o eugenol, e no outro ácido graxo. As amostras foram incubadas por quatro e 24 horas em contato direto e indireto com células L929. A toxicidade foi avaliada usando-se leitura de liberação de Cr^{51} . Em contato direto, os cimentos foram citotóxicos quando recém-manipulados ou após 24 horas. Após uma semana, o cimento à base de eugenol ainda mostrava-se tóxico, enquanto que, no cimento à base de ácido graxo, não houve diferença significativa do grupo controle em relação ao grupo de quatro horas após o seu preparo. No contato indireto, os materiais mostraram pouca citotoxicidade, somente o cimento à base de óxido de zinco e eugenol recém preparado foi claramente citotóxico após 24 horas.

Barbosa et al.⁶, em 1993, salientando a importância da biocompatibilidade dos cimentos obturadores de canais radiculares no sucesso do tratamento endodôntico, analisaram a pasta FS e os cimentos N-Rickert, Fill Canal e Sealer 26

através de um método de análise do Cr^{51} liberado em meio de cultura de células. As células de camundongo L929 e fibroblastos do ligamento periodontal foram usadas como células marcadas. Os cimentos, recém-manipulados foram colocados direta e indiretamente sobre as células, sendo feita a análise da citotoxicidade durante o endurecimento do cimento e após 1, 7 e 14 dias. Os autores concluíram que, dos quatro cimentos acima descritos, o Sealer 26 foi o que apresentou menor toxicidade durante a reação de endurecimento. Após 24 horas, o Sealer 26 e a pasta FS apresentaram resultados melhores que o Fill Canal e o N-Rickert. No período de 7 dias, a maior toxicidade foi observada no cimento Fill Canal.

Hetem et al.³⁸, em 1993, avaliaram a biocompatibilidade, *in vitro*, dos cimentos Selapex, AH 26, CRCS e óxido de zinco e eugenol, em germes dentais de molares de camundongos albinos, com 14 ou 17 dias, empregando 3 diferentes metodologias. Os cimentos foram manipulados de acordo com as instruções do fabricante e condensados em um molde de silicone, em forma de disco. Em seguida, os discos de cada cimento foram testados de 3 maneiras diferentes: 1ª) os discos, após o período de presa, foram colocados no meio de cultura, no qual os germes foram cultivados; 2ª) os discos foram colocados em placas de Petri, contendo meio de cultura, e utilizados após um período médio de 15 dias de incubação em estufa; 3ª) os germes dentais foram cultivados no líquido onde os discos ficaram depositados durante 15 dias. Decorridos seis dias, os germes foram fixados em formalina a 10%, incluídos em parafina, cortados com 6µm de espessura e corados pelo método da Hematoxilina e Eosina, para análise em microscopia óptica. De acordo com os resultados obtidos, todos os cimentos analisados mostraram-se incompatíveis com o desenvolvimento dos germes dentários, nas condições de experimentação. Os germes dentários, obtidos dos animais mais jovens, foram mais resistentes que os obtidos dos animais mais velhos. O meio de cultura onde os discos dos cimentos ficaram depositados, apresentou melhores resultados com relação aos demais experimentos, sugerindo que a liberação de substâncias tóxicas é constante na presença dos discos.

Berbert e Consolaro⁹, em 1994, avaliaram a influência de cimentos endodônticos na migração de polimorfonucleares neutrófilos, utilizando o teste *Skin Window*. Gotículas de cimentos recém-manipuladas foram levadas a uma lamínula de vidro sobre escarificações feitas na pele de 10 indivíduos adultos jovens por um período de três horas. Decorrido este período, as lamínulas foram removidas, coradas em Hematoxilina e Eosina, montadas em lâminas de vidro e submetidas à análise em microscópio óptico. Este teste permitiu aos autores analisarem a citotoxicidade e a influência quimiotóxica dos materiais sobre os neutrófilos. O óxido de zinco e eugenol (OZE), dentre todos os materiais, foi o que exerceu a maior quimiotaxia, embora tenha sido o material que melhor preservou as células estruturalmente. O Sealapex, apesar de ser o material que atraiu o menor número de neutrófilos, propiciou um grande aumento na degranulação celular, apresentando considerável citólise. O CRCS apresentou valores intermediários nas duas variáveis analisadas. Em ordem decrescente, quanto à agressão e migração celular, os cimentos puderam ser assim classificados: Sealapex, CRCS, OZE.

Costa et al.¹⁸, em 1994, testaram a biocompatibilidade de cimentos de OZE variando a proporção pó/líquido (denso e fluído), através de implantes dorsais em tecido conjuntivo subcutâneo de 32 ratos, nos períodos de 7, 15, 30 e 60 dias. O cimento de OZE novo e denso promoveu, aos 7 dias moderada reação inflamatória com predomínio de células mononucleares, discreta necrose de contato, e tendência à organização de fibras colágenas e fibroblastos junto à abertura tubular. Com o decorrer do período, houve regressão da reação inflamatória, ocorrendo processo de reparação tecidual. Aos 60 dias, houve formação de um tecido conjuntivo com características histológicas de normalidade, estando o tubo totalmente envolto por um tecido fibroso denso, que se mostrou mais irritante ao tecido conjuntivo subcutâneo do rato. Os autores concluíram que o cimento de OZE menos irritante foi o novo/denso.

Beltes et al.⁷, em 1995, avaliaram *in vitro* a citotoxicidade de três cimentos endodônticos à base de hidróxido de cálcio (Sealapex, CRCS e Apexit) usando células L929 e BHK21/C13. Após 24 horas os cimentos foram cobertos com a suspensão celular, e a citotoxicidade determinada por uma técnica quantitativa, mostrando que todos os cimentos apresentaram-se citotóxicos. O Sealapex mostrou alta citotoxicidade. O CRCS foi menos tóxico do que o Sealapex e mais tóxico do que o Apexit.

Economides et al.²³, em 1995, avaliaram, *in vivo*, a biocompatibilidade de dois cimentos à base de hidróxido de cálcio (Sealapex e CRCS), um à base de óxido de zinco e eugenol (Roth 811) e um do grupo das resinas epóxicas (AH 26). Além disso, analisaram a influência dos componentes dos cimentos sobre as concentrações de cálcio e zinco em alguns órgãos. Num total de 75 ratos utilizados, divididos em cinco grupos de cinco animais cada, nos períodos experimentais de 7, 14 e 21 dias. Os cimentos recém-manipulados foram colocados em tubos de teflon, os quais foram implantados no tecido subcutâneo dorsal. Após os períodos experimentais, os animais foram sacrificados e as peças obtidas preparadas para o exame histológico. Para análise do cálcio e zinco, 25 animais foram sacrificados uma semana após a implantação e o cérebro, fígado, rins e útero foram removidos e analisados por espectrofotometria. Os resultados demonstraram que o material mais irritante no período de 7 dias foi o AH 26. Entretanto, a intensidade da inflamação decresceu após 21 dias. Já o Roth 811 e o Sealapex, a reação inflamatória moderada/severa, observada no período de 7 dias persistiu até o final do experimento. A reação inflamatória moderada, vista em resposta ao CRCS aos 7 dias, decresceu gradualmente até os 21 dias. Embora o AH 26 não contenha cálcio em sua composição, os valores da concentração de cálcio aumentaram em todos os órgãos examinados, quando comparados ao controle. Por outro lado, os órgãos dos animais onde se utilizou o CRCS e o Sealapex não apresentaram modificações nas

concentrações de cálcio, em comparação ao grupo controle. Com relação ao zinco, altas concentrações foram observadas nas amostras teciduais obtidas dos animais do grupo do CRCS e Roth 811 (os dois cimentos contêm zinco na sua composição).

Mittal et al.⁷², em 1995, avaliaram histologicamente a resposta tecidual do tecido conjuntivo de ratos frente a quatro cimentos obturadores de canais radiculares (OZE, Tubliseal, Sealapex, e Endoflas FS). Utilizaram 15 ratos albinos adultos, nos quais foi injetado no tecido subcutâneo na região dorsal, 0,1mL de material espatulado. Os animais foram sacrificados 48 horas, 7, 14 dias, 1 e 3 meses após a injeção subcutânea. Os resultados histológicos revelaram que todos os cimentos causaram alguma inflamação, a qual diminuiu com o decorrer do período, exceto no caso do OZE, que aumentou no período de 48 horas até sete dias, tendendo, a seguir, a uma diminuição. O Sealapex quando comparado com os outros cimentos utilizados, foi o material que mostrou a menor reação inflamatória, ocorrendo junto ao mesmo, uma reação inflamatória moderada somente até as 48 horas, a qual decresceu para suave nos demais períodos. O OZE, Tubliseal e o Endoflas FS foram severamente tóxicos nos períodos de 48 horas e sete dias, tendo esta toxicidade diminuída gradualmente nos períodos mais prolongados. Nenhuma reação inflamatória foi observada aos três meses, em todos os cimentos testados.

Almeida¹, em 1997, avaliou histologicamente a resposta dos tecidos apicais e periapicais de dentes de cães, após biopulpectomia e obturação dos canais radiculares com os cimentos Ketac-Endo, Fill Canal e AH Plus. O cimento Ketac-Endo foi avaliado após 270 dias tendo como controle o Fill Canal; o AH Plus foi avaliado após 90 dias tendo também o Fill Canal como controle. O Ketac-Endo não apresentou selamento apical total em nenhum dos casos, e nos casos de selamento parcial, o tecido conjuntivo intersticial contido entre as paredes do selamento neoformado apresentava infiltrado inflamatório mononuclear suave/moderado, poucas fibras colágenas, edema e poucos cementoblastos junto à parede do

selamento. Em contato com o cimento obturador, havia necrose superficial e congestão vascular. Nos casos de ausência de selamento, o tecido intersticial apresentava também áreas de necrose em contato com o material obturador, e moderado/severo infiltrado inflamatório mononuclear que se estendia até o periápice. No grupo do Fill Canal, após 270 dias, nos casos de selamento parcial, o tecido intersticial invaginado para o interior do canal radicular apresentava poucos fibroblastos e fibras colágenas e quando em contato com o material obturador, havia necrose e infiltrado inflamatório moderado, constituído predominantemente por células mononucleares. A região periapical apresentava resposta inflamatória de intensidade moderada/severa, constituída por células mononucleares, edema, poucos fibroblastos e fibras colágenas. No AH Plus após 90 dias, nos casos de selamento parcial, o tecido intersticial apresentava numerosos fibroblastos, intensa presença de fibras colágenas e ausência de células inflamatórias, exceto raros macrófagos, e as ramificações do delta apical apresentavam tecido conjuntivo íntegro. O Fill Canal após 90 dias na região periapical evidenciava resposta inflamatória de intensidade moderada/severa, edema, poucos fibroblastos e fibras colágenas dissociadas.

Geurtsen e Leyhausen²⁹, em 1997, pensando em minimizar a incidência de efeitos colaterais e/ou sistêmicos, verificaram a biocompatibilidade de todos materiais obturadores de canais radiculares por vários testes *in vitro* e *in vivo*. Os testes *in vitro* incluem mutagenicidade, citotoxicidade e efeitos antibacterianos. Alguns trabalhos, mostraram que cimentos à base de óxido de zinco e eugenol contêm paraformaldeído (N2 e Endomethasone), mostrando uma forte atividade antibacteriana, porém são freqüentemente mutagênicos. Cimentos à base de óxido de zinco e eugenol são classificados como sendo altamente/severamente citotóxicos, contrário àqueles à base de hidróxido de cálcio (Sealapex e Apexit), que apresentam boa ou excelente citocompatibilidade. Estes resultados foram confirmados por numerosos trabalhos histológicos *in vivo*. Citam o trabalho de SPANGBERG et al.¹⁰⁰, de 1993, relatando que o AH 26 libera formaldeído depois de misturado com

liberação máxima após dois dias, e que o N2 libera o dobro de formaldeído do AH 26 depois de dois dias.

Leonardo et al.⁶⁴, em 1997, avaliaram histologicamente o reparo apical e periapical após o tratamento endodôntico em 80 dentes de cães. Foram analisados os cimentos: Sealapex, CRCS, Sealer 26 e Apexit. Decorridos 180 dias da obturação dos canais radiculares os animais foram sacrificados, as mandíbulas e as maxilas removidas, e fixadas em formol a 10%. Após o processamento histológico, os cortes foram corados pelo Tricrômico de Mallory e Hematoxilina e Eosina. Segundo os autores, o Sealapex permitiu a deposição e mineralização em nível apical em 37,5% dos casos, não sendo observado a presença de infiltrado inflamatório e áreas de reabsorção dos tecidos mineralizados. O CRCS apresentou selamento parcial e presença de infiltrado inflamatório moderado. Nos grupos Apexit e Sealer 26 havia ausência de selamento e ativa reabsorção de tecido mineralizado ocorreu na maioria dos casos. O infiltrado inflamatório presente no Apexit era do tipo severo, e no Sealer 26 o infiltrado inflamatório era suave ou ausente.

Leonardo⁶⁵, em 1997, avaliou em cultura de macrófagos em períodos de uma, 12, 24, 48 e 72 horas, a citotoxicidade de cinco cimentos endodônticos: Sealapex, Sealer 26, Apexit, CRCS e Fill Canal. Foram avaliadas as alterações morfológicas e a liberação de H_2O_2 . Quanto às alterações morfológicas, todos os cimentos foram tóxicos. Numa ordem crescente de toxicidade, foram mais agressivos que o controle o Fill Canal, CRCS, Sealer 26, Apexit e Sealapex. Quanto à liberação de H_2O_2 a ordem crescente de toxicidade foi Sealer 26, Fill Canal, Apexit, Sealapex e CRCS.

Kolokouris et al.⁵³, em 1998, verificaram no tecido conjuntivo subcutâneo de 44 camundongos, fêmeas *Wistar*, a biocompatibilidade de dois cimentos obturadores de canais radiculares, sendo o Apexit à base de hidróxido de cálcio, e o

Pulp Canal Sealer um cimento endodôntico típico à base de óxido de zinco e eugenol, onde estes cimentos, devidamente manipulados, foram inseridos em tubos de teflon para então serem implantados no dorso dos animais. Estes implantes foram removidos depois de 5, 15, 60 e 120 dias, fixados e preparados para avaliação microscópica. Observaram uma severa reação inflamatória com extensões necróticas para o Apexit no quinto e décimo quinto dias, porém a intensidade desta reação diminuiu no sexagésimo dia chegando a um nível mínimo no septuagésimo vigésimo dia, caracterizado pela presença de tecido conjuntivo com poucos macrófagos. Resultados semelhantes ocorreu com o Pulp Canal Sealer, onde verificaram uma reação inflamatória nos períodos finais pouco maior da observada para o Apexit.

Koulaouzidou et al.⁵⁴, em 1998, avaliaram *in vitro* a citotoxicidade de três cimentos endodônticos à base de resina (AH 26, AH Plus e Topseal). O cimento endodôntico ideal deveria ter, entre outras características, uma boa capacidade seladora e biocompatibilidade. Ambas características importantes para o sucesso clínico do tratamento endodôntico. Hoje, temos vários tipos de cimentos endodônticos, os quais estão divididos em: não contendo eugenol, contendo eugenol, à base de hidróxido de cálcio. Dentro da categoria dos cimentos que não contêm eugenol, temos os cimentos à base de resina, como o AH 26. Recentemente a Dentsply/DeTrey desenvolveu um novo cimento, o AH Plus. Também a Dentsply/Maillefer introduziu o Topseal, que contém a mesma formulação do AH Plus. Os testes foram realizados *in vitro* com células L929 (fibroblastos de camundongos). O AH 26 mostrou-se severamente citotóxico quando comparado ao AH Plus e Topseal, os quais, similarmente, mostraram uma baixa toxicidade.

Tanomaru Filho et al.¹⁰⁶, em 1998, verificaram o efeito de dois cimentos endodônticos, o Sealapex (à base de hidróxido de cálcio) e o Fill Canal (à base de óxido de zinco e eugenol), no reparo de dentes com pericementite apical crônica. Após o preparo biomecânico, em dentes de cães, irrigando-se com hipoclorito de

sódio a 5,25%, os canais radiculares foram secos e um curativo de demora à base de hidróxido de cálcio foi mantido por sete dias. Decorrido este período, os canais radiculares foram obturados com os dois cimentos, utilizando-se condensação lateral com guta-percha. Após 270 dias, os animais foram sacrificados, os procedimentos histológicos realizados, e os achados histológicos mostraram um melhor reparo para os dentes obturados com o Sealapex.

Ersev et al.²⁴, em 1999, avaliaram o potencial de citotoxicidade e mutagenicidade (teste Ames) de vários cimentos endodônticos em células eucarióticas e procarióticas *in vitro*. A atividade antimicrobiana de cimentos endodônticos que contêm substâncias como o paraformaldeído, eugenol e timol, ajudam a destruir algumas bactérias remanescentes. Por outro lado, severa toxicidade de um cimento endodôntico pode levar a danos teciduais. Tem sido demonstrado que cimentos à base de óxido de zinco e eugenol apresentam moderada a severa toxicidade. Severa inflamação foi observada depois dos primeiros períodos quando o cimento foi injetado em tecido subcutâneo de coelhos. Moderada inflamação estava presente nos tecidos apicais e periapicais de babuíños após período de dois anos de observação. Materiais contendo formaldeído podem induzir severa inflamação periapical depois de poucos meses de observação. O cimento à base de resina, AH 26, causou severa irritação nos períodos iniciais de observação, entretanto, reações leves foram relatadas após longo tempo de observação. Cimentos à base de hidróxido de cálcio mostraram leve para moderada irritação tecidual. No teste de mutagenicidade (Teste de Ames), os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol contendo paraformaldeído foram genotóxicos *in vitro*, e cimentos à base de resina foram genotóxicos tanto *in vitro* como *in vivo*. Diglicidil éter bisfenol-A foi identificado como o componente mutagênico do cimento à base de resina AH 26.

Leonardo et al.⁶², em 1999, avaliaram a resposta tecidual de um cimento endodôntico à base de resina epoxi, o AH Plus, o qual foi comparado ao Fill Canal (à

base de óxido de zinco e eugenol). Trinta e quatro pré-molares de cães foram usados. Depois da instrumentação, os canais radiculares foram obturados com guta-percha e com os cimentos citados, utilizando a técnica da condensação lateral. Após todos os procedimentos histológicos, não observaram células inflamatórias nem áreas de necrose associadas ao cimento AH Plus. Formação de tecido duro apicalmente ao material foi observado em 14 espécies. Já o Fill Canal apresentou uma resposta inflamatória de intensidade moderada na região periapical, principalmente adjacente ao material.

Guigand et al.³³, em 1999, avaliaram a citocompatibilidade de três cimentos endodônticos (à base de óxido de zinco e eugenol, à base de hidróxido de cálcio e à base de óxido de cálcio). Utilizaram uma linhagem de fibroblastos de camundongos (NIH3T3), usando um sistema que simulasse condições *in vivo*, onde o material dos cimentos permanecia no meio de cultura contendo os fibroblastos, separados por uma membrana de policarbonato. A biocompatibilidade foi avaliada 24, 72 e 168 horas após o contato e os resultados obtidos envolveram o teste de citotoxicidade colorimétrico, a microscopia eletrônica de varredura e a citometria contínua. O presente estudo demonstrou que cimentos à base de óxido de cálcio são tão biocompatíveis quanto a maioria dos cimentos à base de hidróxido de cálcio. Uma maior citotoxicidade foi encontrada para o cimento à base de óxido de zinco e eugenol. No entanto, estes testes *in vitro*, constituem somente o primeiro passo e não uma reprodução precisa das condições *in vivo*.

Huang et al.⁴⁴, em 2001, avaliaram a genotoxicidade de cimentos endodônticos à base de óxido de zinco e eugenol (Canals, Canals-N e Tubilseal), hidróxido de cálcio (Sealapex) e resina epóxi (Topseal, AH 26 e AH Plus). Utilizaram cultura de células de carcinoma oral, e o teste utilizado para leitura foi eletroferese. Verificaram o maior nível de dano no DNA, induzido pelos cimentos resinosos, seguidos pelos cimentos à base de óxido de zinco e eugenol (que nem sempre

causaram aumento na genotoxicidade), e nenhum efeito ocorreu com cimentos à base de hidróxido de cálcio. E os autores encerram, questionando sobre a escolha do cimento ideal, onde as propriedades físicas e os efeitos biológicos devem ser bem analisados.

Silva⁹⁷, em 2002, avaliou a citotoxicidade dos cimentos Topseal, EndoREZ, Tubli-Seal, Kerr Pulp Canal Sealer EWT e o controle (Zimosan), quanto à liberação de derivados do oxigênio no contato cimento/cultura de macrófagos peritoneais de camundongos. Quanto à liberação de peróxido de hidrogênio, na ordem do mais para o menos citotóxico dos cimentos na concentração de 9mg/ml foram: Topseal, Zimosan, EndoREZ, Tubli-Seal e Kerr Pulp Canal Sealer EWT. E na concentração de 18mg/ml foram: Topseal, Zimosan e EndoRez, Tubli-Seal e Kerr Pulp Canal Sealer EWT. Com relação à liberação de óxido nítrico, na ordem do mais para o menos citotóxico dos cimentos na concentração de 9mg/ml foram: o grupo controle (LPS), Topseal, Kerr Pulp Canal Sealer EWT, e Tubli-Seal semelhante ao EndoREZ. E na concentração de 18mg/ml foram: LPS, Topseal igual ao Kerr Pulp Canal Sealer EWT, Tubli-Seal e EndoREZ.

Proposição

Nos propusemos a avaliar a biocompatibilidade do cimento endodôntico resinoso EndoREZ[®] e um cimento experimental derivado do polímero de mamona (Poliquil[®]), acrescido de um radiopacificador, comparados aos cimentos endodônticos à base de óxido de zinco e eugenol (Endofill[®]) e à base de óxido de cálcio (Sealapex[®]), através do implante de tubos de polietileno em tecido subcutâneo de camundongos.

Material e Método

Material:

1. Cimentos endodônticos

Os cimentos utilizados foram: Sealapex*, à base de óxido de cálcio; Endofill**, à base de óxido de zinco e eugenol; EndoREZ***, um novo cimento lançado no mercado à base de resina e, um cimento experimental derivado do polímero de mamona (Poliquil)****, acrescido de óxido de zinco***** como agente radiopacificador. O cimento Sealapex, por ser um cimento do tipo pasta/pasta, utilizamos partes iguais (6 centímetros aproximadamente) de pasta base e pasta catalizadora sobre uma placa de vidro, e com auxílio de uma espátula, manipulando até obter-se uma mistura homogênea. Com o cimento Endofill, utilizamos a proporção pó/líquido de 40 gramas para 4 gotas (BONETTI FILHO et al.¹¹, 1995) e, a espatulação foi realizada em uma placa de vidro obtendo-se uma mistura homogênea. O cimento EndoREZ, é um cimento pasta base/pasta catalizadora acompanhado de uma ponta misturadora, onde o material já sai depositado numa placa de vidro com a consistência ideal, recomendada pelo fabricante. O cimento experimental fornecido pelo fabricante (Poliquil) apresenta-se em ampolas individuais que consistem de um polímero e pré-polímero, onde adicionamos óxido de zinco pró-análise, na seguinte proporção: 0,54 gramas para 24 gotas do polímero e 0,2 gramas para 14 gotas do pré-polímero. Para pesagem, foi utilizada uma balança de precisão*****. As fórmulas dos outros cimentos encontram-se no Anexo 1A. Após o preparo dos cimentos, os mesmos foram inseridos dentro de tubos de polietileno para implantação em tecido subcutâneo de camundongos.

* Sybron Kerr Indústria e Comércio Ltda., Guarulhos, SP, Brasil

** Dentsply HERO Indústria e Comércio Ltda., Petrópolis, RJ, Brasil

*** Ultradent Products, Inc., South Jordan, Utah, USA

**** Poliquil Araraquara Polímeros Químicos Ltda. Araraquara, SP, Brasil

***** SSWhite Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

***** Mettler AJ150, Mettler-Toledo AG, USA

2. Tubos de polietileno

Foram utilizados tubos de polietileno^{*} com 1,5 milímetros de diâmetro interno, os quais foram cortados no comprimento de 10 milímetros. Antes dos cortes, uma das extremidades do tubo foi selada com uma pinça clínica^{**} aquecida em lâmpada a álcool e, testado o vedamento com introdução de água destilada com auxílio de uma seringa de plástico descartável BD Plastipak de 5ml 22G1¼^{***}, arredondamos esta extremidade com ponta abrasiva 694 XF-104 PM^{****} em baixa rotação, complementada com borracha abrasiva verde 744S-104 PM^{*****} também em baixa rotação, obtendo uma superfície lisa, para que não houvesse interferência quanto à resposta tecidual quando implantado (PHILIPS⁸⁸, 1993).

Estes tubos de polietileno foram mantidos à temperatura de 110°C durante 30 minutos em estufa e preenchidos posteriormente com os cimentos endodônticos testados. Neste procedimento foi utilizado um instrumento Lentulo^{*****} acionado por um motor elétrico^{*****} numa rotação baixa (1000 rpm) para inserir o cimento espatulado dentro dos tubos, evitando-se a formação de bolhas. Qualquer excesso dos cimentos foi removido com auxílio de uma gaze estéril. Imediatamente, estes tubos foram implantados em tecido subcutâneo dos camundongos.

* Kit de selantes Delton – Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil

** Quinelato, Schobell Industrial, Ltda., São Paulo, SP, Brasil

*** Becton Dickinson Ind. Cirúrgica.Ltda, Curitiba, PR, Brasil

**** Hager & Meisinger GmbH, Düsseldorf, Germany

***** Dentsply/Maillefer – Maillefer Instruments AS, Ballaigues, Switzerland

***** Nouvag AG TCM 3000, USA

Método:

1. Animais

A amostra consistiu de 26 camundongos *Mus musculus albinus* machos, pesando em média 40 gramas, provenientes do Biotério Central do Campus da UNESP – Araraquara. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas individuais, alimentados com ração balanceada e água *ad libitum*.

Os camundongos foram divididos em 2 grupos de 20 animais (I, II), e cada grupo, subdividido em 2 subgrupos de 10 animais (A e B) correspondendo aos cimentos testados e períodos de análise, que foram de 7 e 50 dias após a implantação dos tubos de polietileno contendo os cimentos endodônticos.

No grupo I, cada animal recebeu o implante de 2 tubos de polietileno na região dorsal, um de cada lado, contendo os cimentos endodônticos Sealapex® e Endofill®, os quais permaneceram por 7 e 50 dias.

No grupo II, cada animal recebeu o implante de 2 tubos de polietileno na região dorsal, um de cada lado, contendo os cimentos endodônticos EndoREZ® e o cimento experimental derivado do polímero de mamona acrescido de um agente radiopacificador (óxido de zinco), os quais permaneceram por 7 e 50 dias.

Tivemos ainda o grupo III com 6 animais, subdivididos em 2 subgrupos de 3 animais (A e B) correspondendo ao grupo controle e períodos de análise de 7 e 50 dias após a implantação dos tubos de polietileno vazios.

No grupo III, cada animal recebeu o implante de 2 tubos de polietileno na região dorsal, estando o mesmo vazio.

Na Tabela 1 observamos a distribuição dos grupos e subgrupos com o respectivo número de animais, os materiais testados e os períodos de análise.

Tabela 1

Grupos	Subgrupos (número de animais)	Materiais testados	Períodos (dias)
I	A = 5 animais	Sealapex [®] Endofill [®]	7 dias
	B = 5 animais	Sealapex [®] Endofill [®]	50 dias
II	A = 5 animais	EndoREZ [®] Cimento experimental	7 dias
	B = 5 animais	EndoREZ [®] Cimento experimental	50 dias
III	A = 3 animais	Tubo vazio Tubo vazio	7 dias
	B = 3 animais	Tubo vazio Tubo vazio	50 dias

2. Procedimento cirúrgico

Os animais foram submetidos à anestesia intramuscular com Francotar^{*} - anestésico geral (0,08ml/100grs) e Virbaxyl^{*} - relaxante muscular e sedativo (0,04ml/100grs), aplicados com uma seringa de insulina descartável 1ml com agulha 13x0,38^{**}. Foram então, mantidos na gaiola até que os mesmos estivessem anestesiados.

^{*}Virbac do Brasil Indústria e Comércio Ltda, Jurubatuba, SP, Brasil

^{**}Injex Indústrias Cirúrgicas Ltda, Ourinhos, SP, Brasil

A seguir, retiramos o animal da gaiola, realizamos tricotomia na região dorsal com uma máquina elétrica*, complementada por um aparelho de gilete com lâmina de aço inoxidável** e logo o mesmo foi colocado em mesa cirúrgica, onde realizamos anti-sepsia do campo operatório com detergente de mamona*** (FERREIRA et al.²⁵, 1999, FERREIRA et al.²⁶, 2002).

Todo material cirúrgico foi esterilizado em estufa à 170°C durante 1 hora.

Na linha média, equidistante da inserção da cauda e da cabeça do animal, foi feita uma incisão transversal de aproximadamente 4mm de comprimento em relação ao corpo do animal com tesoura cirúrgica de ponta fina QT.104-14****. Com o auxílio de uma tesoura de ponta romba Mayo-Stille QT.180-14****, o tecido subcutâneo foi divulsionado lateralmente, formando duas lojas cirúrgicas para acomodação do implante, sendo uma de cada lado e distantes, aproximadamente 15mm da incisão transversal. Neste instante, com auxílio de uma pinça Dietrich QZ.110-20****, os tubos de polietileno, contendo os cimentos recém preparados foram implantados. Os animais do grupo I receberam dois tubos com cimentos diferentes, os do grupo II receberam também dois tubos com outros dois cimentos e o grupo III (controle) recebeu 2 tubos vazios. A seguir, as bordas da ferida foram aproximadas e suturadas com fio de seda montado em agulha Vicryl 4-0 estéril*****. Após sutura, o animal voltou para a gaiola, continuando a receber ração balanceada e água *ad libitum*.

Decorridos os períodos de 7 e 50 dias, os animais foram anestesiados, realizada nova tricotomia e na mesa cirúrgica, após anti-sepsia com detergente de mamona***, repetimos a incisão quando implantamos os tubos contendo os cimentos endodônticos e o controle, procedemos a divulsão com cuidado e, com auxílio de uma tesoura cirúrgica de ponta fina QT.104-14****, removemos os fragmentos teciduais

* Wahl Clipper Corp, Model Mc, USA

** Gillette do Brasil Ltda., São Paulo, SP, Brasil

*** Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil

**** Quinelato, Schobell Industrial, Ltda., São Paulo, SP, Brasil

***** Ethicon, Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil

(tecido cutâneo, subcutâneo e tubo de polietileno) com suficiente margem de segurança. Em seguida, os animais foram mortos por sobredose anestésica de hidrato de cloral a 10% (100ml de água deionizada/10gr de hidrato de cloral*), intraperitoneal. Os animais foram colocados temporariamente no freezer e, posteriormente, incinerados.

3. Processamento histológico

As peças cirúrgicas foram esticadas em papel filtro e imersas em formol de Lillie⁶⁶ tamponado pH=7,4, permanecendo em processo de fixação por 96 horas. Findo este prazo, foram lavadas em água corrente durante 24 horas.

Em seguida, as peças foram desidratadas em álcoois crescentes (70, 80, 90°GL e absoluto), diafanizadas em álcool/xilol e xilol, e incluídas em parafina. Após a obtenção do bloco, removemos o tubo de polietileno. Inicialmente, com uma lâmina de bisturi número 15^{**} aquecido, fazendo um corte transversal na região central do tubo, dividindo-o em duas partes: com auxílio de uma pinça ou agulha, removemos a porção do tubo que estava fechada. Em seguida, com muito cuidado, removemos a porção próxima da área a ser analisada. O vazio deixado pelo tubo foi preenchido com parafina líquida com auxílio de uma espátula 7^{***}.

O bloco foi então levado ao micrótomo rotatório ^{****} onde efetuamos cortes semi-seriados de 6 micrômetros de espessura.

A coloração das lâminas foi feita com Hematoxilina e Eosina e Tricrômico de Mallory. A Hematoxilina e Eosina foi utilizada para a análise da morfologia celular e através do Tricrômico de Mallory, analisamos a qualidade da substância intercelular.

* Becton Dickenson, Juiz de Fora, MG, Brasil

** Vetec Química Final Ltda, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

*** Quinelato, Schobell Industrial, Ltda., São Paulo, SP, Brasil

**** HM 325-MICROM

4. Análise histológica

A análise histológica ocorreu sob a forma de duplo cego, realizado por apenas um examinador, com o emprego de microscópio óptico comum*. As lâminas foram fotografadas para documentação e avaliação dos resultados, os quais foram obtidos a partir da análise subjetiva e comparativa do grau de irritação ao tecido conjuntivo do dorso dos camundongos provocados por cada um dos materiais implantados junto à abertura tubular.

5. Comitê de ética em experimentação animal

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de ética em experimentação animal-CEEA da Faculdade de Odontologia de Araraquara-Unesp em 12 de maio de 2003, processo nº 14/2003 e encontra-se no Anexo 2A.

* Carl Zeiss, modelo Jenaval

RESULTADO

Levando-se em consideração que os materiais obturadores de canais radiculares devem preencher certas propriedades biológicas, tais como: ter pouca solubilidade; não estimular resposta inflamatória ou caso estimule, que esta resposta se desenvolva em parâmetros que permitam o tecido reparador isolar o material obturador do tecido conjuntivo *per se* com formação de uma cápsula fibrosa, após o período inicial pós-obturação, e não persistam ativando o tecido conjuntivo formando um intenso infiltrado inflamatório impedindo ou retardando o início do reparo, decidimos realizar a avaliação dos eventos histológicos através dos seguintes parâmetros:

- I- quanto à intensidade do infiltrado inflamatório: a qual foi graduada em não significativa (0), discreta (1), moderada (2) e intensa (3). Os critérios utilizados para graduar a intensidade do infiltrado inflamatório estão expostos na Tabela 2 (ISO 10993-3⁵⁰, 1992).
- II- quanto à formação e características de uma cápsula fibrosa em torno da abertura do tubo de polietileno: ausente (0), discreta (1), moderada (2), e espessa (3). Os critérios atribuídos às características da cápsula fibrosa estão na Tabela 3.
- III- quanto à dispersão do material obturador à distância da abertura do tubo de polietileno: não disperso (0), levemente disperso (1), e disperso (2). Os critérios atribuídos à dispersão do material estão na Tabela 4.

Tabela 2 – Graus atribuídos à intensidade do infiltrado inflamatório.

Graus	Células inflamatórias
0	Nenhuma ou poucas células próximas à abertura do tubo, caracterizando tecido conjuntivo normal.
1	Discreta quantidade de polimorfonucleares, ou mononucleares, e as características histológicas do tecido conjuntivo subcutâneo estavam ainda identificáveis.
2	Moderada quantidade de células inflamatórias, mas sem tecido necrótico, podendo haver desarranjo das características histológicas do tecido conjuntivo subcutâneo.
3	Denso infiltrado inflamatório junto à abertura do tubo, com presença de abscesso e possibilidade de tecido necrótico.

Tabela 3 – Graus atribuídos à formação e características de uma cápsula fibrosa.

Graus	Características da cápsula fibrosa
0	Equilíbrio entre a população celular e a substância intercelular.
1	Leve predomínio da substância intercelular fibrosa sobre a população celular.
2	Predomínio e orientação da substância intercelular fibrosa sobre a população celular.
3	Caracterização da formação e orientação das fibras colágenas e poucas células de preenchimento.

Tabela 4 – Critérios atribuídos à dispersão do material.

Critérios	Dispersão do material
0	Restrito ao contato material obturador/tecido conjuntivo na abertura do tubo de polietileno.
1	Nas proximidades da abertura do tubo ou da cápsula fibrosa, quando presente, porém além da mesma.
2	Distante da abertura do tubo ou da cápsula fibrosa, quando presente, no conjuntivo adjacente.

Cada material testado foi aplicado em 5 animais e permaneceu por períodos de 7 e 50 dias, quando os animais foram mortos. De cada animal obtivemos 10 lâminas para cada material testado, sendo que 1 lâmina abriga 3 cortes histológicos os quais foram analisados por um examinador calibrado, o qual atribuiu os escores, seguindo os parâmetros definidos anteriormente.

Das lâminas analisadas, obtivemos resultado único para cada material testado nos respectivos períodos, portanto, como não houve variação, optamos por dispensar qualquer análise estatística.

Cimento experimental 7 dias

Quanto à intensidade do infiltrado inflamatório classificamos como discreto, com poucos polimorfonucleares e mononucleares (plasmócitos e linfócitos em meio a muitos macrófagos). A população celular predominante mostra muitos fibroblastos, responsáveis pela formação das fibras colágenas orientadas, dispostas na

embocadura do tubo. A neoformação vascular (angiogênese) é intensa ao redor do material na abertura do tubo, mostrando uma resposta padronizada para este material.

Quanto à formação e características de uma cápsula fibrosa em torno da abertura do tubo de polietileno, classificamos como discreta, com fibroblastos ativos e fibras colágenas organizadas, sugerindo uma resposta lenta e gradativa, ou seja, não está frente a um material agressivo, onde elas responderiam rapidamente e de forma desorganizada para rapidamente isolar o material do organismo.

Quanto à dispersão do material em relação à abertura do tubo de polietileno, foi restrito ao contato material obturador/tecido conjuntivo na abertura do tubo, e classificado como não disperso (Figura 1).

Endofill® 7 dias

Observamos pequeno aglomerado de células mortas na abertura do tubo, sem ocorrência de fagocitose. O tecido conjuntivo localizado à distância e subjacente é formado por muitos macrófagos e fibroblastos ativos na produção de fibrilas em meio a uma grande concentração de líquido tecidual e infiltrado discreto.

Quanto à formação e características de uma cápsula fibrosa em torno da abertura do tubo de polietileno, classificamos como discreta, sem presença de células inflamatórias com concentração de líquido tecidual, sugerindo agressão do material.

Quanto à dispersão do material em relação à abertura do tubo de polietileno, foi restrito ao contato material obturador/tecido conjuntivo na abertura do tubo e classificado como não disperso (Figura 2).

EndoREZ[®] 7 dias

Presença de tecido rico em hemosiderina na abertura do tubo. As células do tecido conjuntivo estão desorganizadas com presença de pequenos vacúolos no espaço intercelular. O infiltrado inflamatório na abertura do tubo é de pouca intensidade. No tecido conjuntivo adjacente, temos fibroblastos e macrófagos, possivelmente estes, já querendo eliminar as células mortas e/ou partículas do material.

Quanto à formação e características de uma cápsula fibrosa em torno da abertura do tubo de polietileno, classificamos como discreta, sendo formada com certa distância da área agredida.

Quanto à dispersão do material em relação à abertura do tubo de polietileno, foi restrito ao contato material obturador/tecido conjuntivo na abertura do tubo (Figura 3).

Sealapex[®] 7 dias

O tecido conjuntivo reage com migração de grande número de macrófagos na abertura do tubo, colocando-se junto à concentração de grânulos escuros relacionados ao cimento. Não se observa infiltrado inflamatório significativo, e sim uma fagocitose do cimento em massa pelos macrófagos.

Quanto à formação e características de uma cápsula fibrosa em torno da abertura do tubo de polietileno, classificamos como moderada, com presença de poucos fibroblastos.

Quanto à dispersão do material em relação à abertura do tubo de polietileno, observamos macrófagos ativos com o material no seu interior nas adjacências da abertura do tubo (Figura 4).

Tubo vazio 7 dias

Observa-se fina camada de fibras colágenas orientadas ao longo da abertura do tubo com fibroblastos ativos. Presença de capilares sangüíneos esparsos com diâmetro normal. O tecido que recobre a abertura do tubo, se continua com o conjuntivo frouxo com fibras colágenas, fibroblastos esparsos e macrófagos.

Quanto à formação e características de uma cápsula fibrosa em torno da abertura do tubo de polietileno, classificamos como discreta, sem presença de células inflamatórias (Figura 5).

Cimento experimental 50 dias

Aos 50 dias, o tecido conjuntivo apresenta-se frouxo, com presença de fibroblastos, poucas fibras colágenas e grande quantidade de substância intercelular amorfa. Observa-se ainda a presença de cápsula fibrosa discreta, com fibras organizadas. Quanto à dispersão do material em relação à abertura do tubo de polietileno, o mesmo manteve-se restrito ao contato material/tecido conjuntivo (Figura 6).

Endofill® 50 dias

Aos 50 dias, observa-se fibrose com densas fibras colágenas na abertura do tubo, que caracterizam a presença de cápsula fibrosa discreta, com fibras organizadas. Quanto à dispersão do material em relação à abertura do tubo de polietileno, o mesmo manteve-se restrito ao contato material/tecido conjuntivo (Figura 7).

EndoREZ[®] 50 dias

Aos 50 dias, observa-se presença de infiltrado inflamatório moderado na abertura do tubo, e tecido conjuntivo adjacente, rico em macrófagos ativos, poucos fibroblastos, vasos sanguíneos hiperemiados com estase, migração leucocitária e grande número de leucócitos ao redor do vaso. Observa-se ainda a presença de cápsula fibrosa moderada. Quanto à dispersão do material em relação à abertura do tubo de polietileno, observamos o mesmo sendo fagocitado (Figura 8).

Sealapex[®] 50 dias

Há formação de fibras colágenas orientadas ao longo do material na abertura do tubo, e presença de grânulos do material no interior de macrófagos à distância. O tecido conjuntivo concentrado ao redor dos grânulos do material apresenta fibras colágenas neoformadas em meio às fibras maduras com fibroblastos, capilares sanguíneos, e leve inflamação local. Observa-se ainda a presença de cápsula fibrosa espessa, com fibras colágenas densamente empacotadas. Quanto à dispersão do material em relação à abertura do tubo de polietileno, observamos ainda macrófagos ativos com o material no seu interior nas adjacências da abertura do tubo (Figura 9).

Tubo vazio 50 dias

Tecido conjuntivo na abertura do tubo com concentração de células e fibras normais, caracterizando uma cápsula fibrosa discreta, e à distância, formando uma rede de malhas esparsas bem dilatadas (Figura 10).

Nas Tabelas 5, 6 e 7, e Figuras 11, 12 e 13 respectivamente, observamos os materiais testados e o controle, com os respectivos parâmetros e seus escores.

Tabela 5

Materiais	Cimento experimental		Endofill [®]		EndoREZ [®]		Sealapex [®]		Tubo vazio	
	7	50	7	50	7	50	7	50	7	50
Parâmetro I – quanto à intensidade do infiltrado inflamatório										
0		X							X	X
1	X		X	X				X		
2						X	X			
3					X					

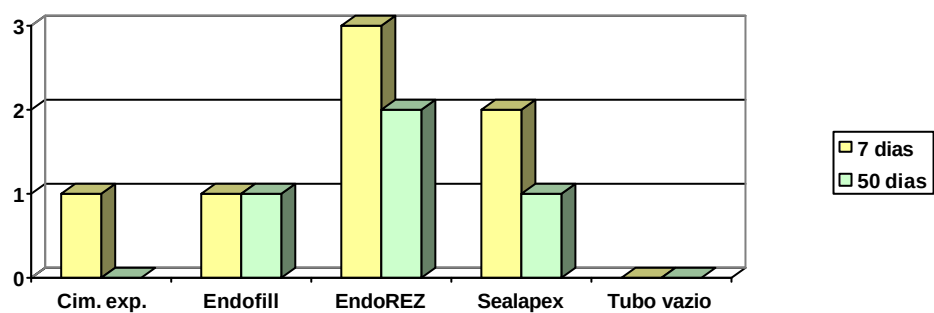


FIGURA 11 – Representação gráfica do parâmetro I – quanto à intensidade do infiltrado inflamatório.

Tabela 6

Materiais	Cimento experimental		Endofill[®]		EndoREZ[®]		Sealapex[®]		Tubo vazio	
Dias	7	50	7	50	7	50	7	50	7	50
Parâmetro II – quanto à formação e característica da cápsula fibrosa										
0										
1	X	X	X		X				X	X
2				X		X	X			
3								X		

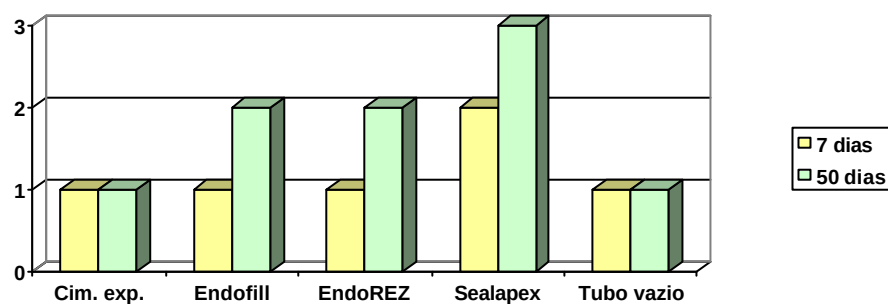


FIGURA 12 – Representação gráfica do parâmetro II – quanto à formação e característica da cápsula fibrosa.

Tabela 7

Materiais	Cimento experimental		Endofill[®]		EndoREZ[®]		Sealapex[®]		Tubo vazio	
Dias	7	50	7	50	7	50	7	50	7	50
Parâmetro III – quanto à dispersão do material obturador										
0	X	X	X	X	X				X	X
1						X	X			
2								X		

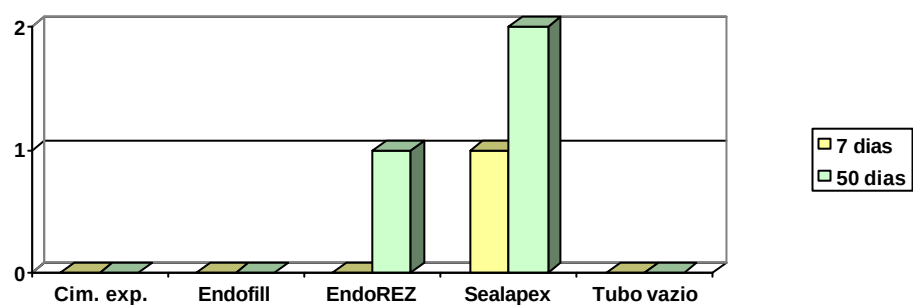


FIGURA 13 – Representação gráfica do parâmetro III – quanto à dispersão do material.

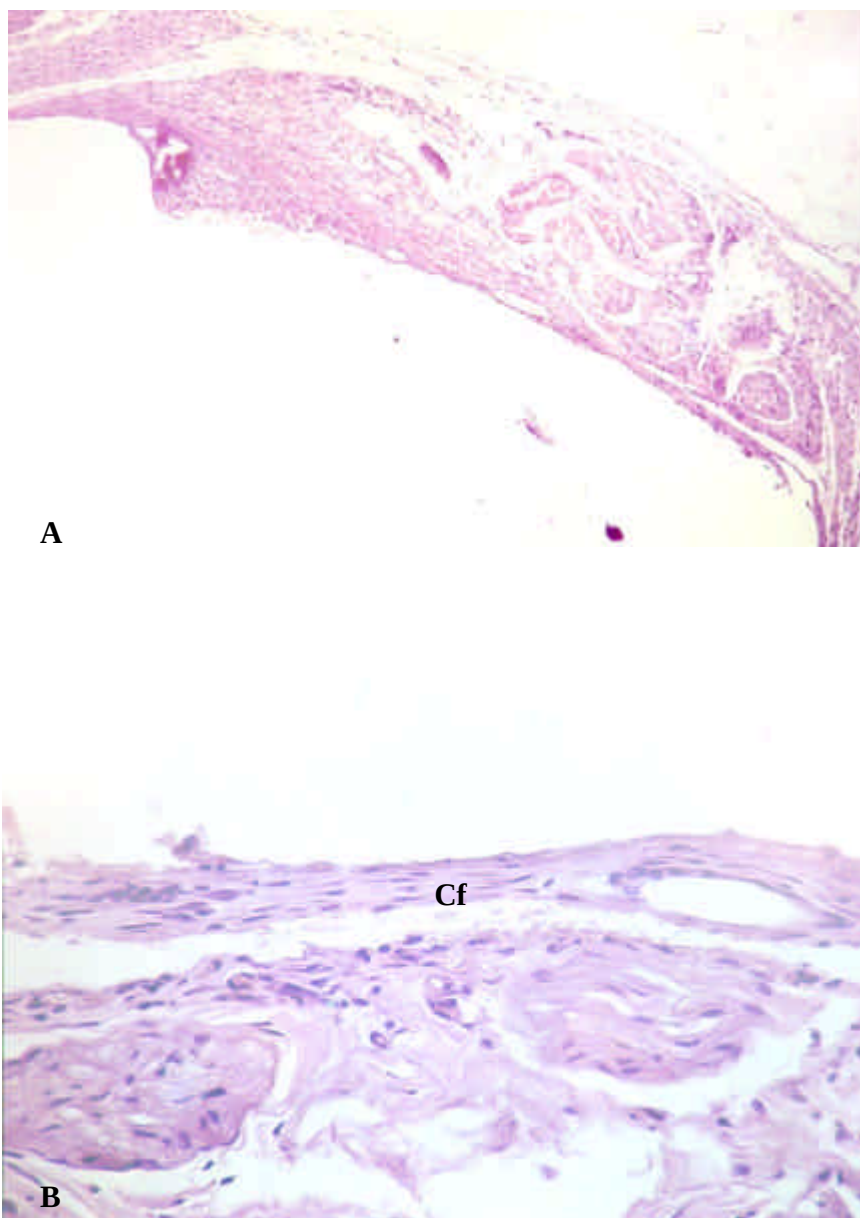


FIGURA 1- Cimento experimental – 7 dias

A – Visão geral do tecido conjuntivo que se encontra obliterando a abertura do tubo de polietileno. H.E.±180X.

B – Formação de fibras colágenas organizadas em meio a fibroblastos caracterizando a formação de uma cápsula fibrosa delgada (Cf). H.E.±700X.

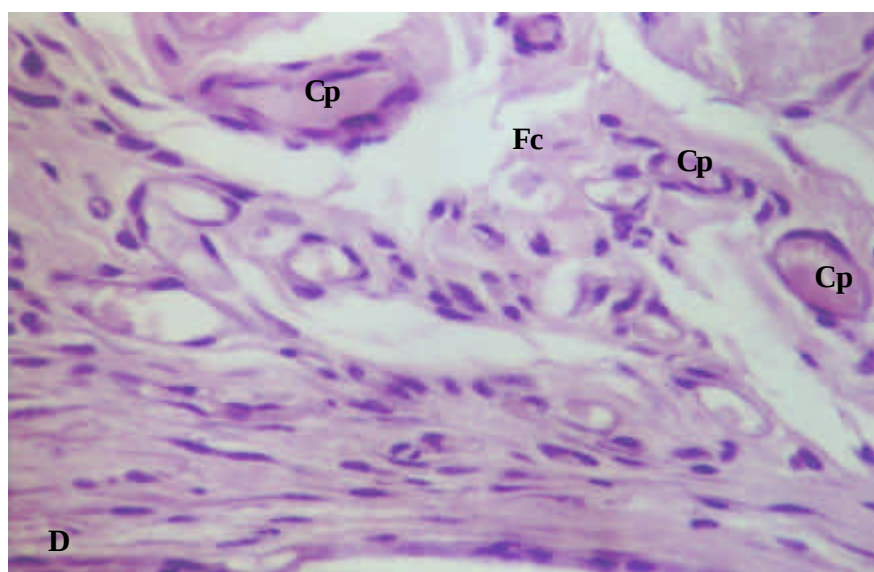
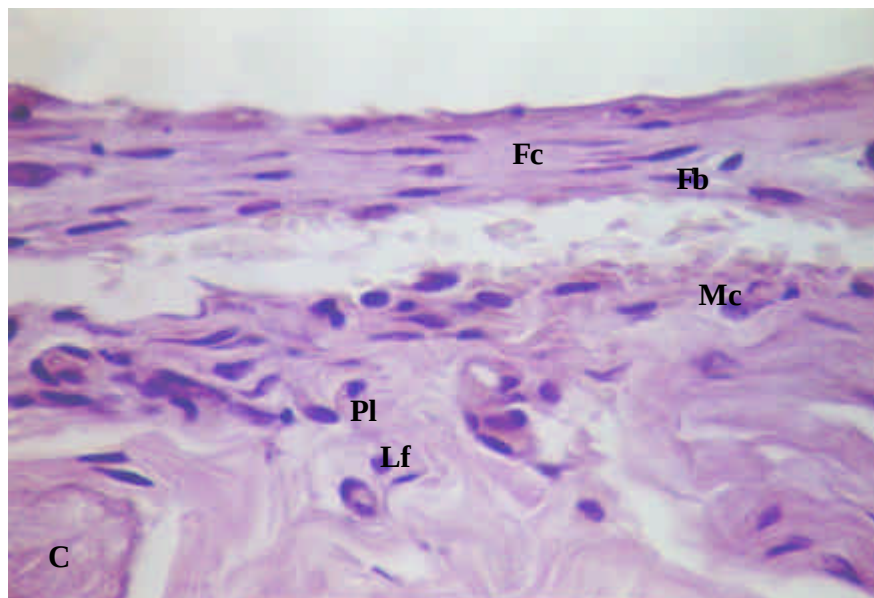


FIGURA 1- Cimento experimental – 7 dias

C – Detalhe da figura anterior, mostrando fibras colágenas (Fc) em meio a fibroblastos (Fb), macrófagos (Mc), plasmócitos (Pl) e linfócitos (Lf).
H.E.±700X.

D – Tecido conjuntivo adjacente com concentração de capilares (Cp) e ausência de inflamação, com presença de fibras colágenas (Fc) recentes, depositadas aleatoriamente.
H.E.±700X.

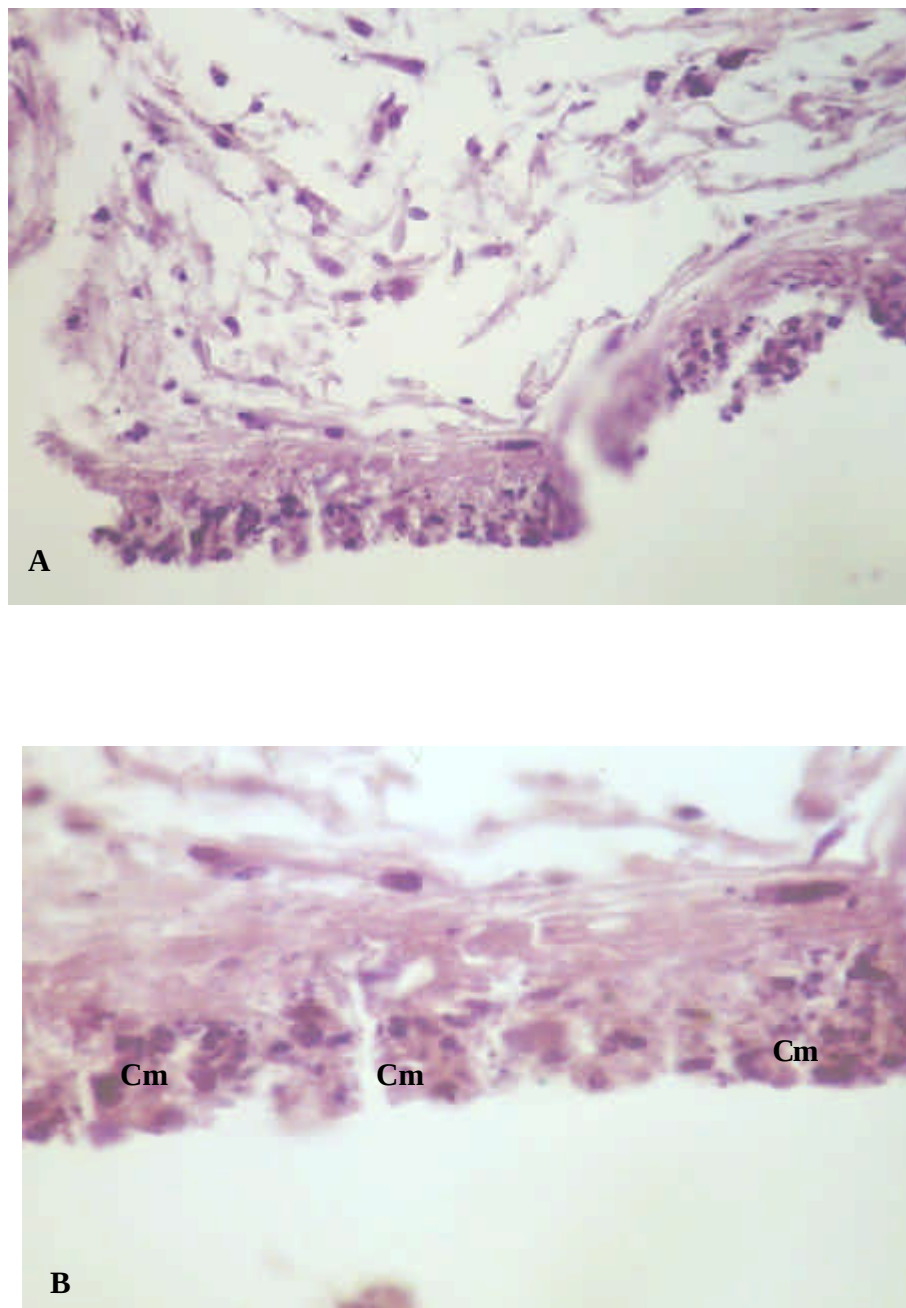


FIGURA 2 – Endofill® – 7 dias

A - Visão geral do tecido conjuntivo na abertura do tubo. H.E.±700X.

B – Aglomerado de células mortas (Cm). H.E.±700X.

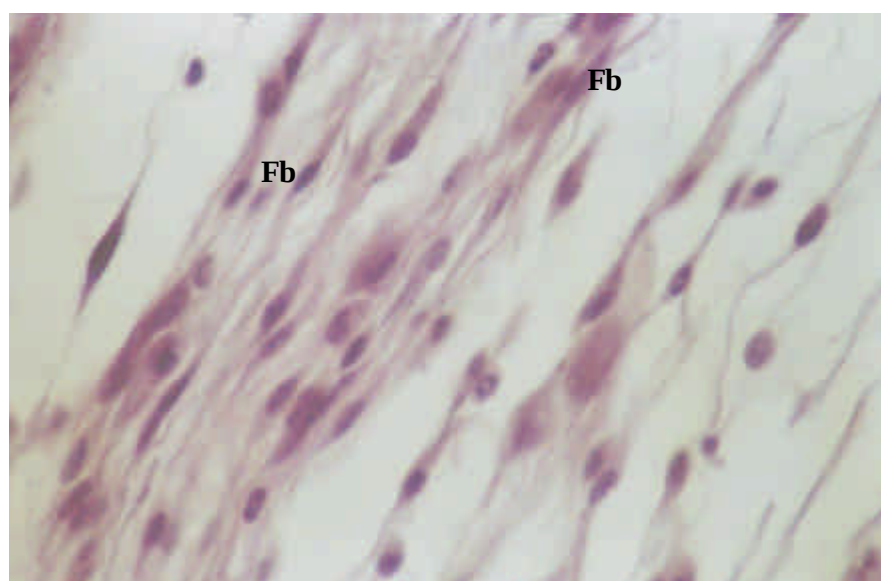
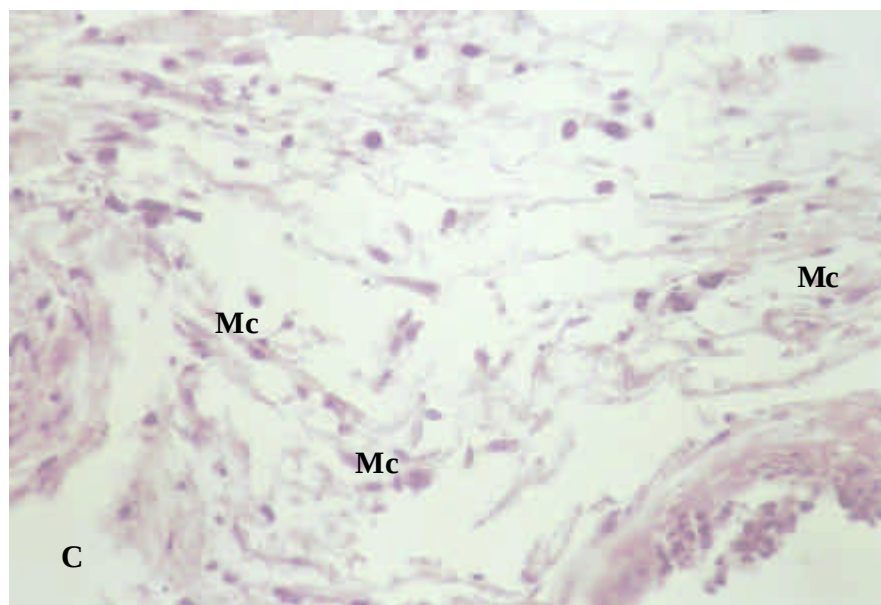


FIGURA 2 – Endofill[®] – 7 dias

C - Macrófagos (Mc) à distância com muito líquido tecidual.

H.E., ±700X.

D - Fibroblastos (Fb) ativos na produção de fibras colágenas.

H.E., ±700X.

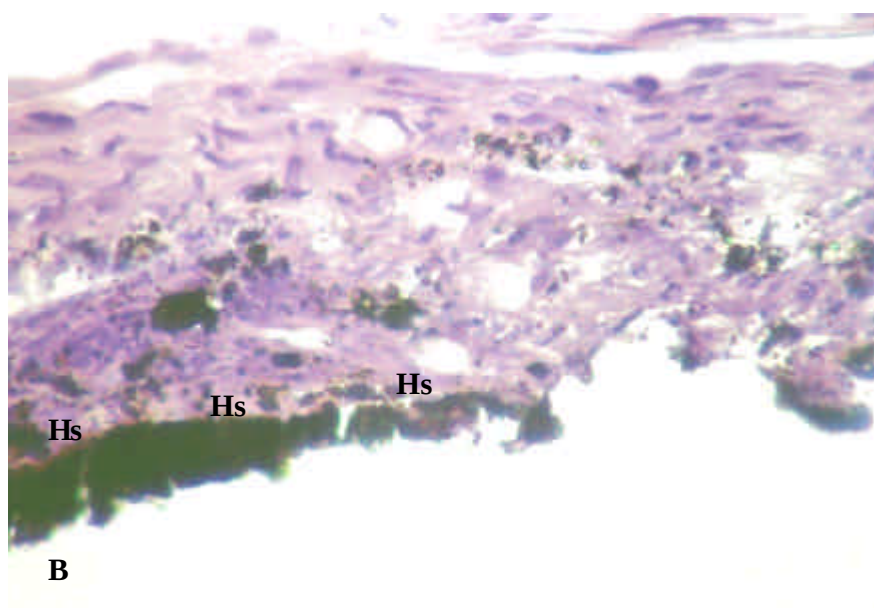
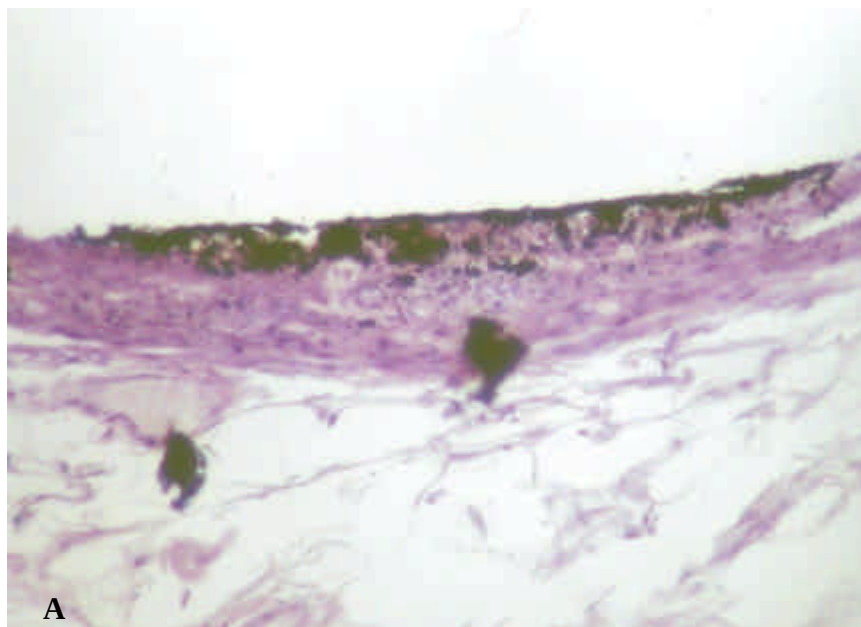


FIGURA 3 – EndoREZ[®] – 7 dias

A - Visão geral do tecido conjuntivo na abertura do tubo

H.E.±700X.

B - Presença de tecido rico em hemosiderina (Hs) na abertura do tubo

H.E.±700X.

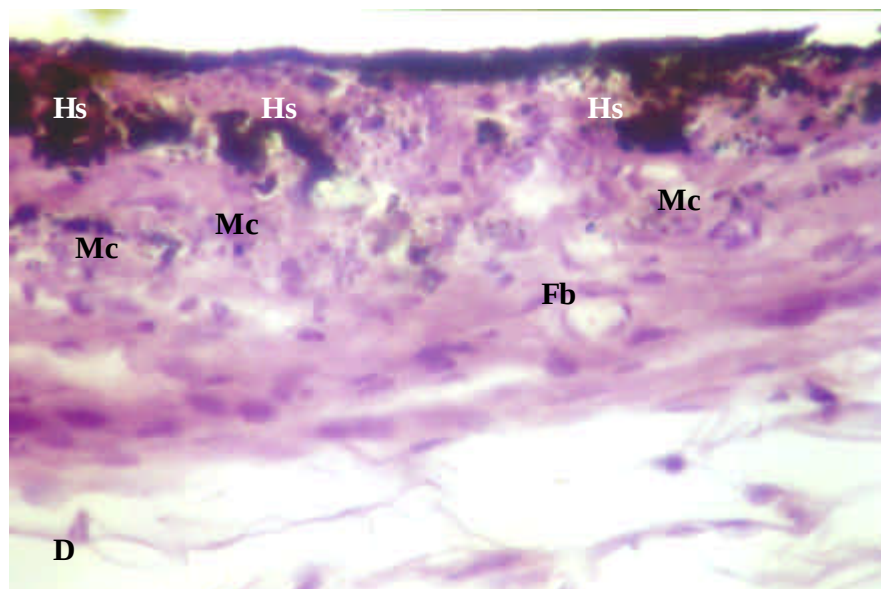
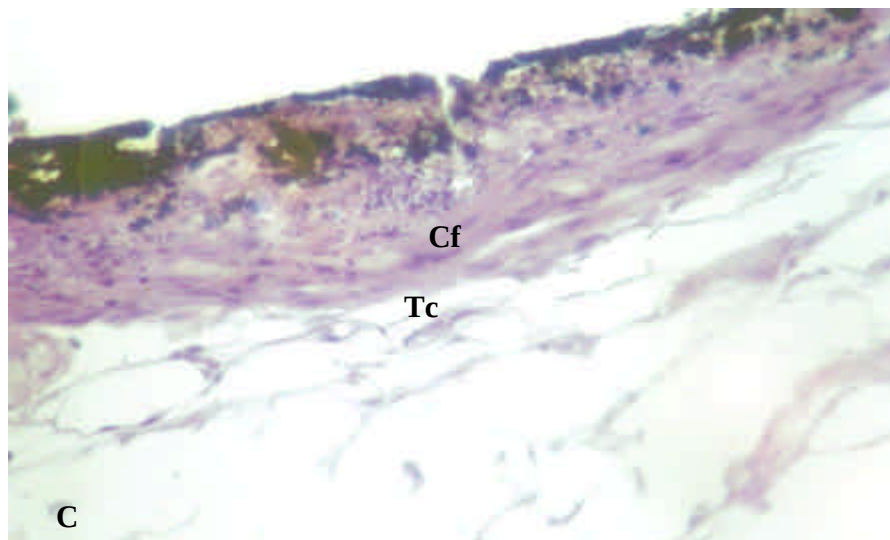


FIGURA 3 – EndoREZ[®] – 7 dias

C - À distância do tubo o tecido conjuntivo (Tc) se apresenta com características próximas à normalidade formando uma cápsula fibrosa (Cf). H.E.±200X..

D - Grumos de hemosiderina (Hs) na abertura do tubo próximo a macrófagos (Mc) ativos e fibroblastos (Fb). H.E.±700X.

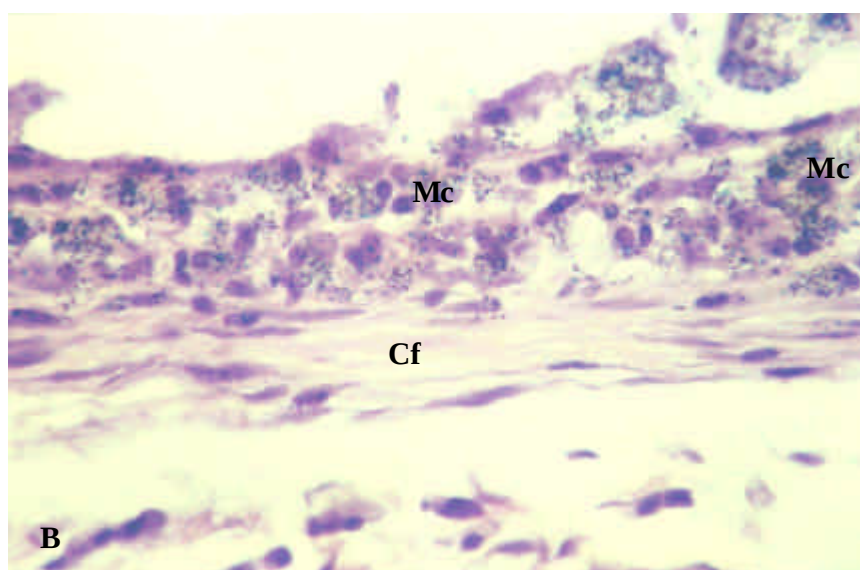
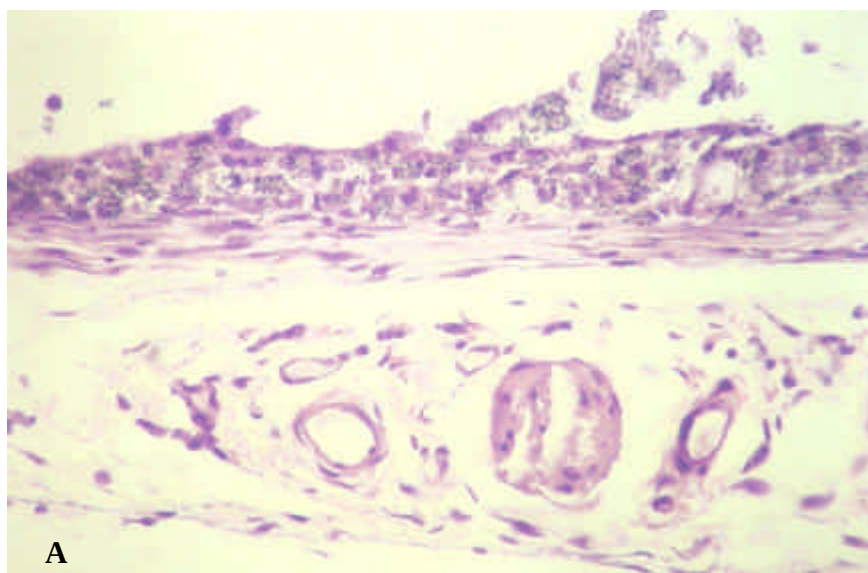


FIGURA 4 – Sealapex[®] – 7 dias

A - Visão geral do tecido conjuntivo na abertura do tubo.

H.E.±700X.

B – Macrófagos (Mc) ativos englobando grânulos do cimento e organização das fibras colágenas na formação de uma cápsula fibrosa (Cf).

H.E.±700X.

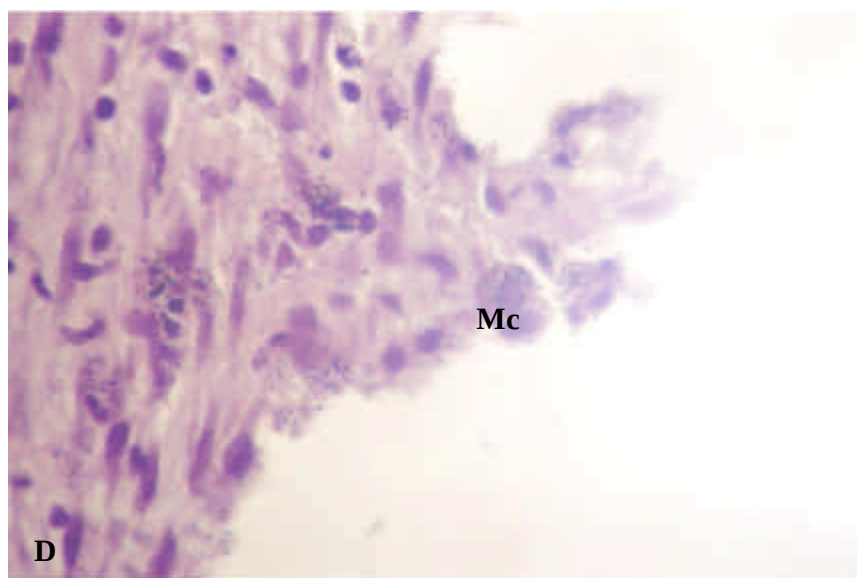
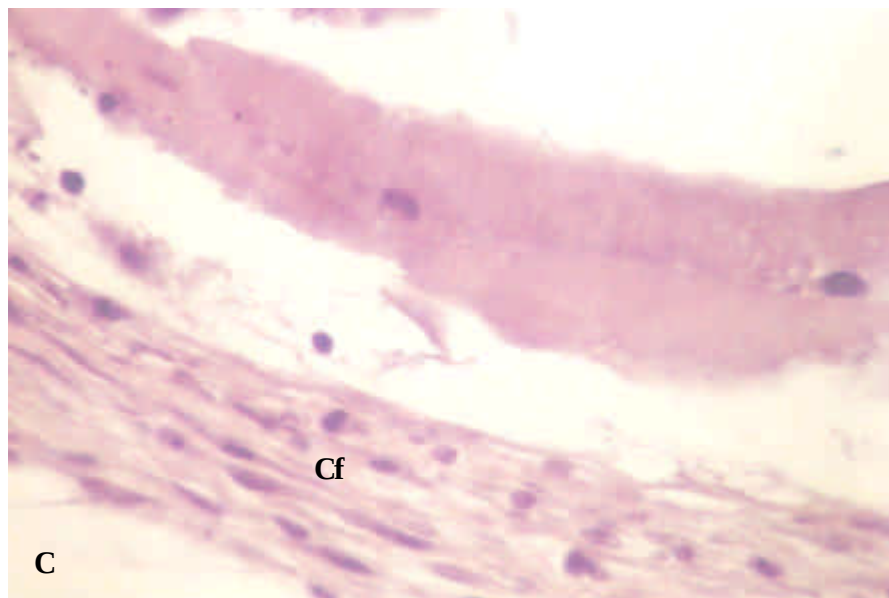


FIGURA 4 – Sealapex[®] – 7 dias

C - Cápsula fibrosa moderada com fibras colágenas organizadas.

H.E.±700X.

D – Observar macrófagos (Mc) ativos englobando o material no tecido conjuntivo adjacente.

H.E.±700X.

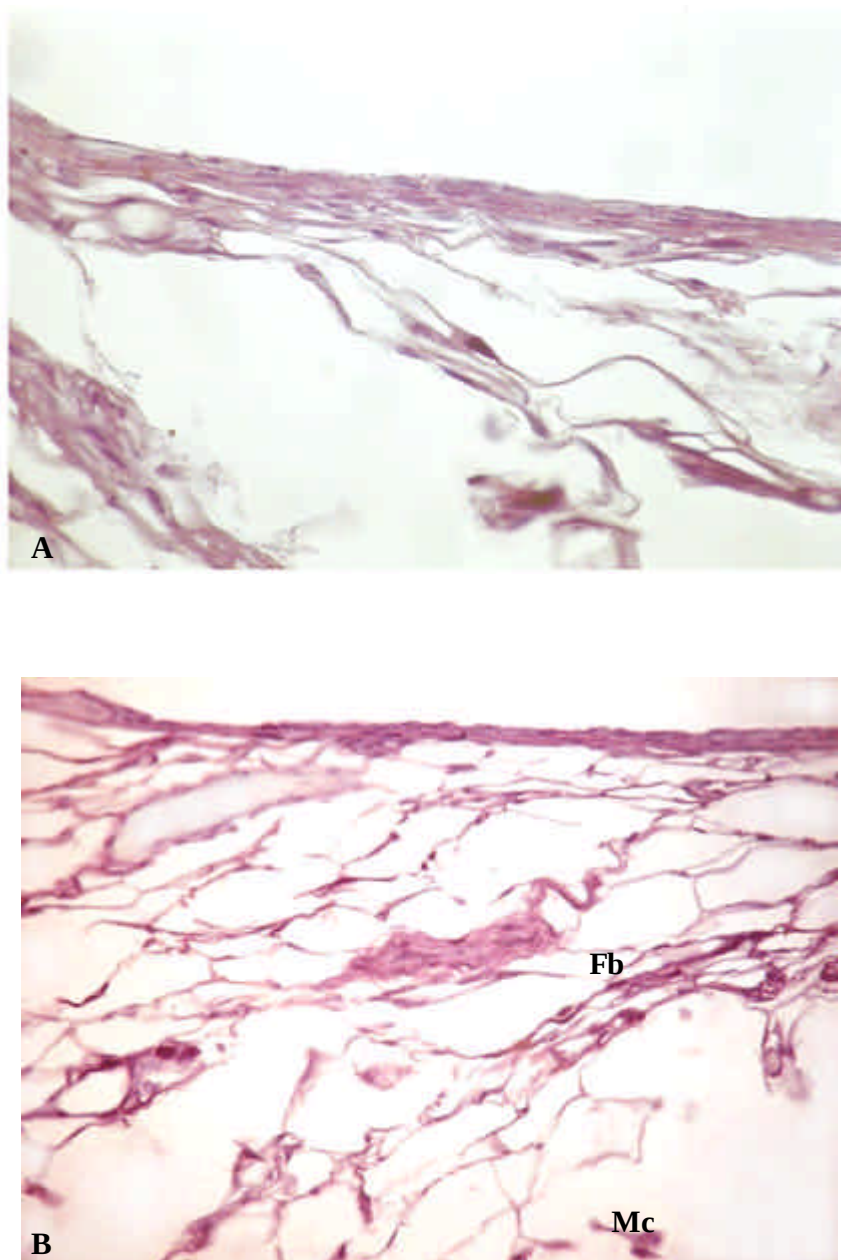


FIGURA 5 – Tubo vazio – 7 dias

A – Visão geral do tecido conjuntivo na abertura do tubo.

H.E.±700X.

B – Tecido conjuntivo normal com fibroblastos (Fb) e poucos
macrófagos (Mc) esparsos.

H.E.±700X.

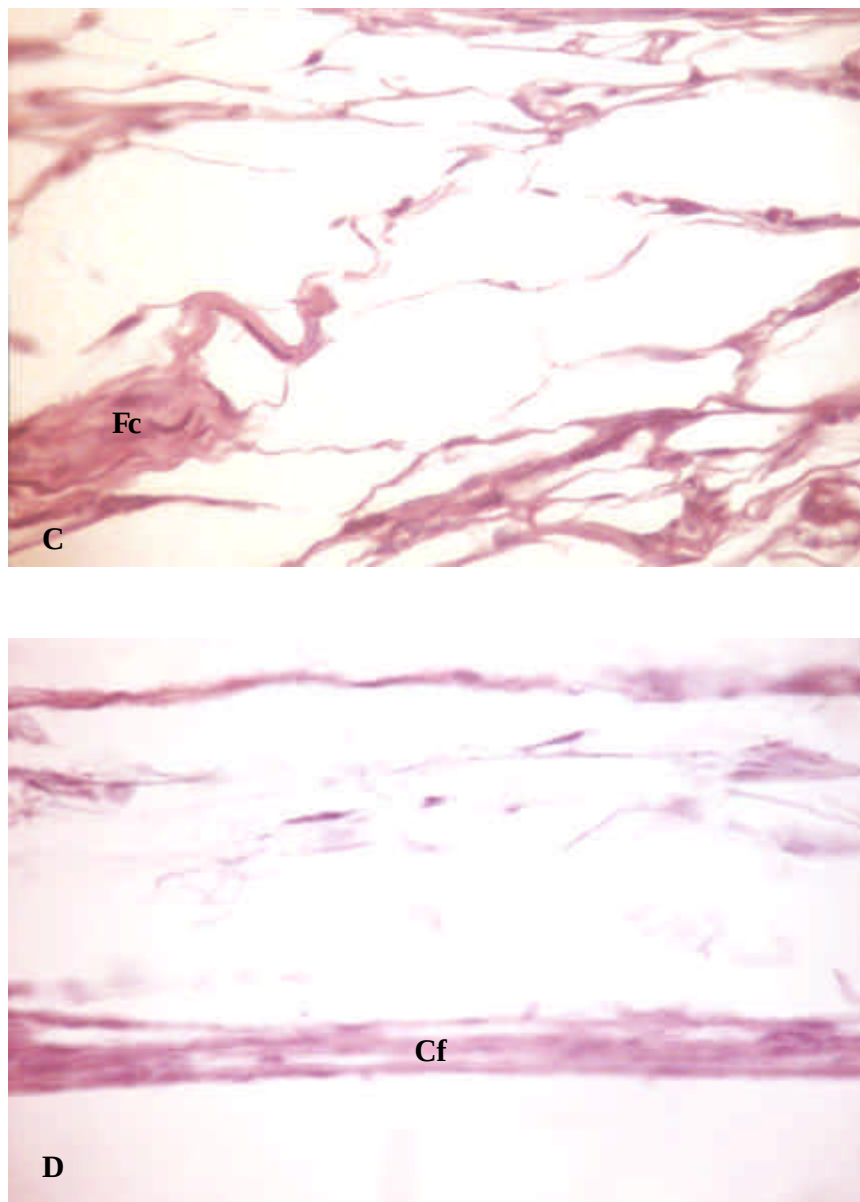


FIGURA 5 – Tubo vazio – 7 dias

C – Fibras colágenas (Fc) em meio à substância intercelular amorfa. H.E., ±700X.

D – Formação de cápsula fibrosa (Cf) delgada sem infiltrado inflamatório. H.E., ±700X.

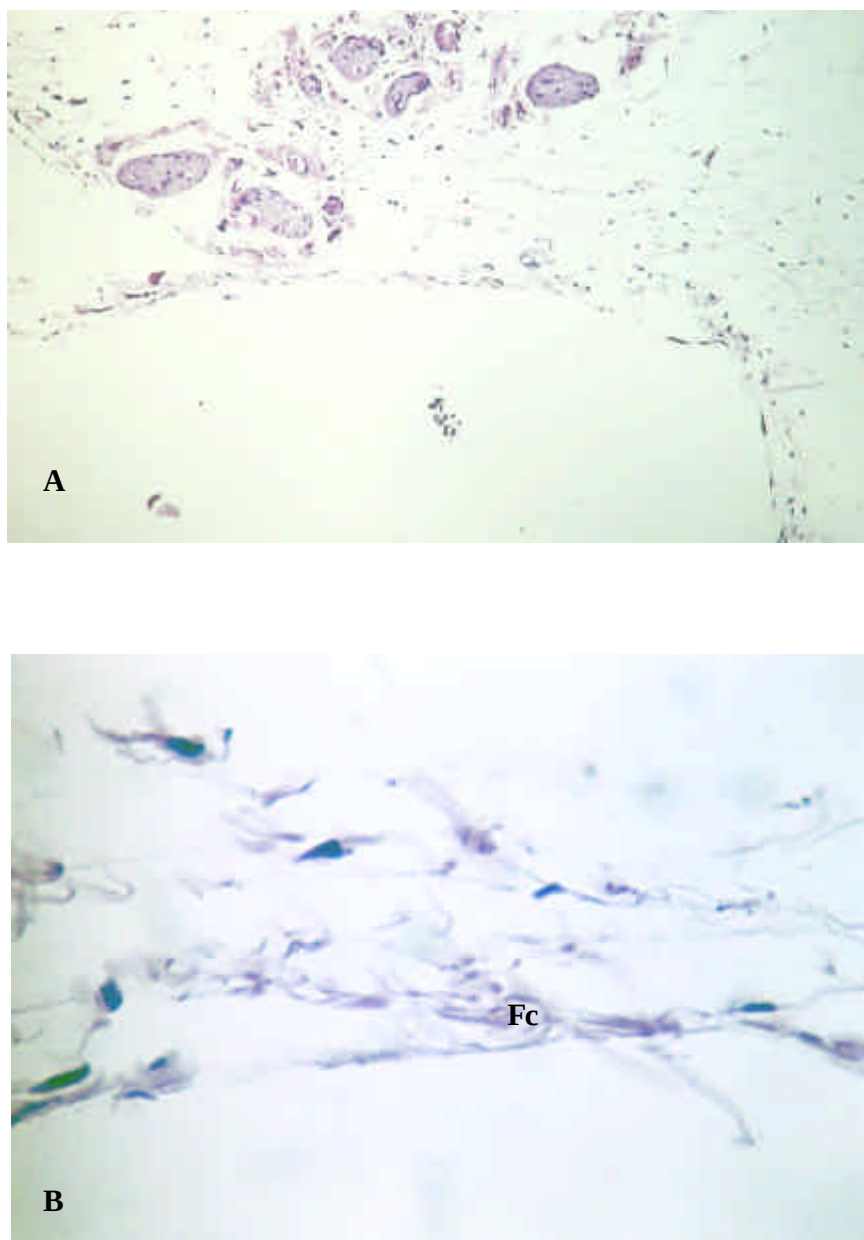


FIGURA 6 – Cimento experimental – 50 dias

A – Visão geral do tecido conjuntivo na abertura do tubo.H.E.±700X.

B – Tecido conjuntivo frouxo com fibras colágenas (Fc) aleatórias e grande quantidade de substância fundamental amorfa. H.E.±700X.

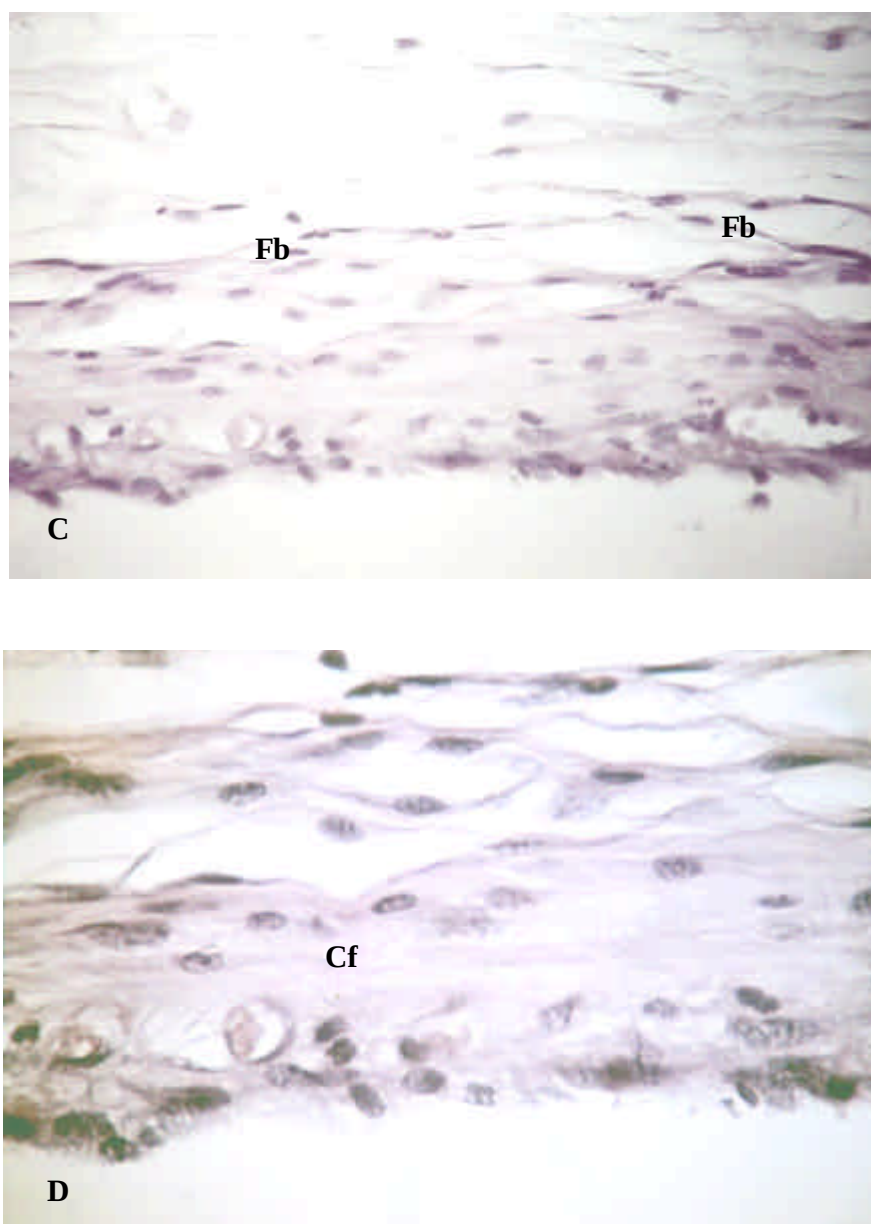


FIGURA 6 – Cimento experimental – 50 dias

C – Concentração de fibras colágenas organizadas formando delicada trama em meio a fibroblastos (Fb) H.E.±700X.

D – Detalhe da normalidade da cápsula fibrosa (Cf) sem infiltrado inflamatório. H.E.±700X.

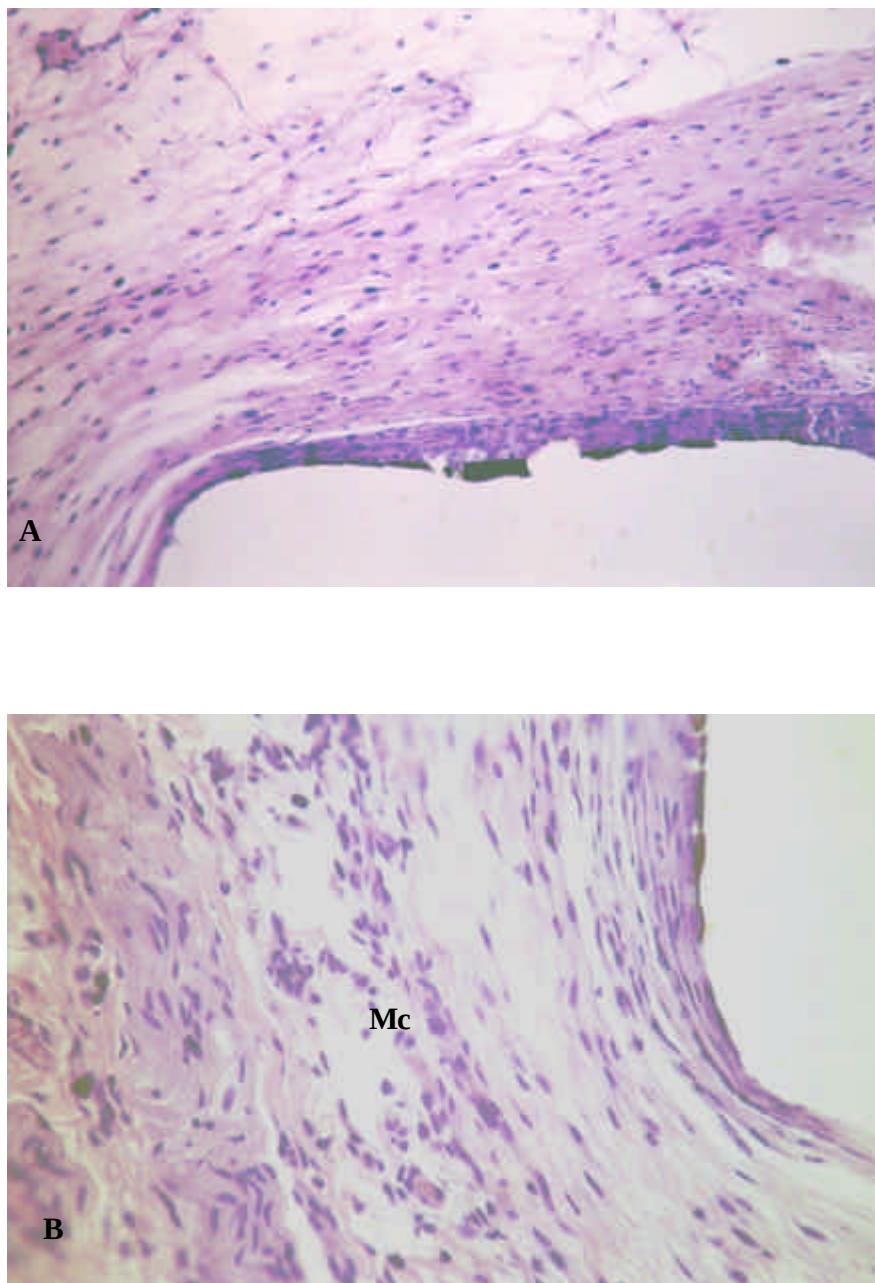


FIGURA 7 – Endofill[®] – 50 dias

A – Visão geral do tecido conjuntivo na abertura do tubo.

H.E., ±340X.

B – Tecido conjuntivo com macrófagos (Mc) ativos à distância.

H.E., ±700X.

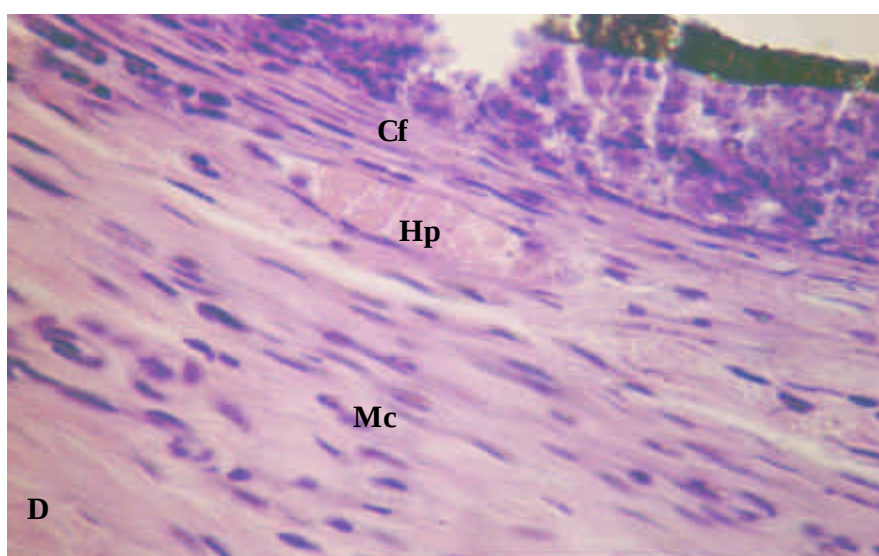
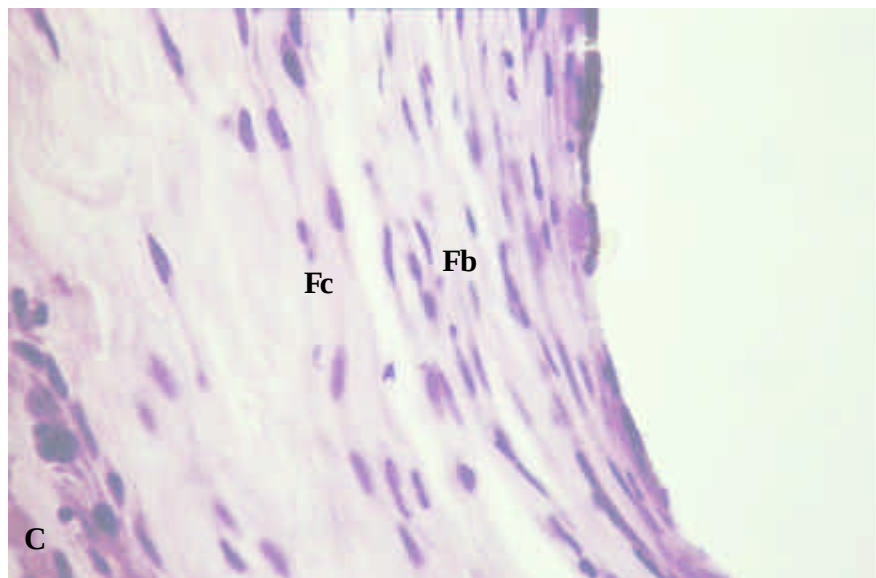


FIGURA 7 – Endofill[®] – 50 dias

C – Fibras colágenas (Fc) orientadas e fibroblastos (Fb). H.E.±700X.

D – Macrófagos ativos em meio à cápsula fibrosa moderada (Cf) com ligeira hiperemia (Hp). H.E.±700X.

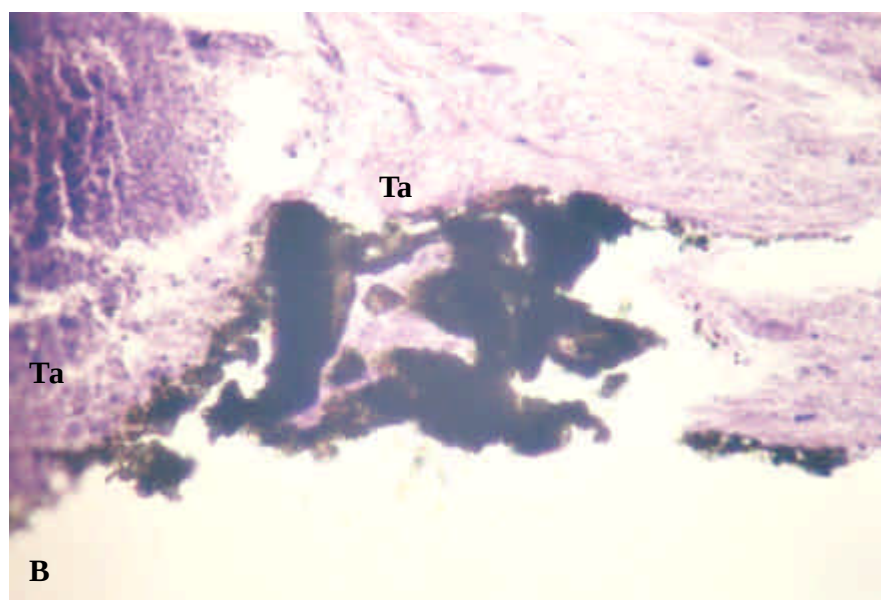
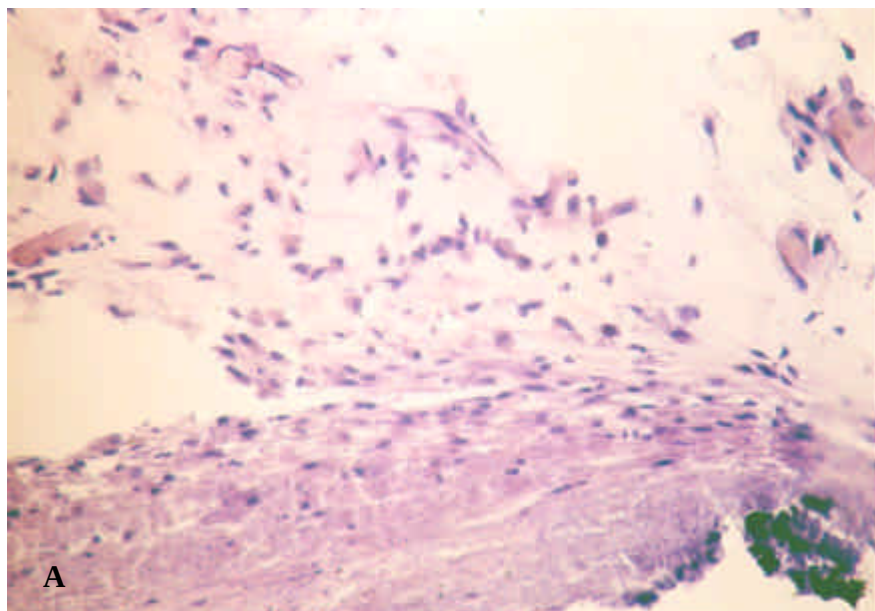


FIGURA 8 – EndoREZ[®] – 50 dias

A – Visão geral do tecido conjuntivo na abertura do tubo. H.E.±700X.

B – Tecido amorfo (Ta) ao redor do material. H.E.±700X.

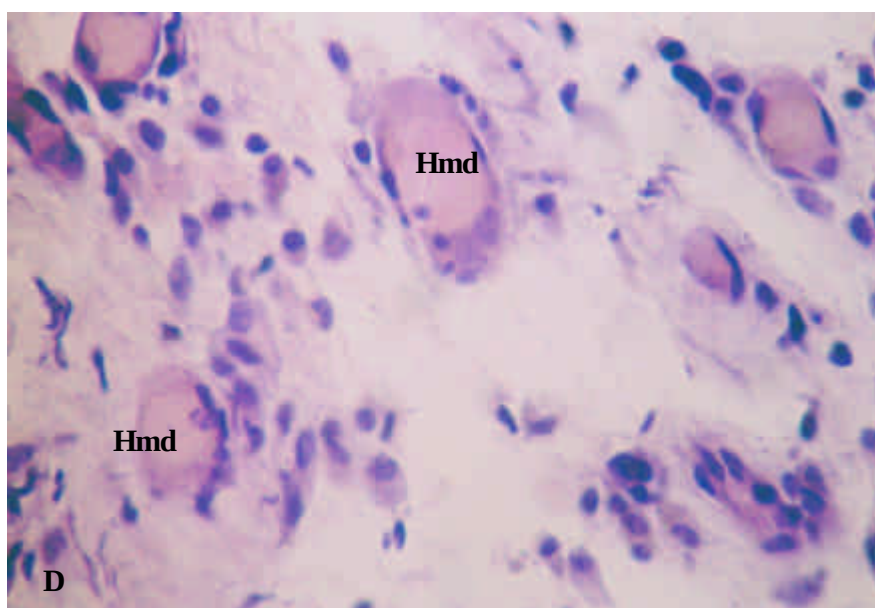
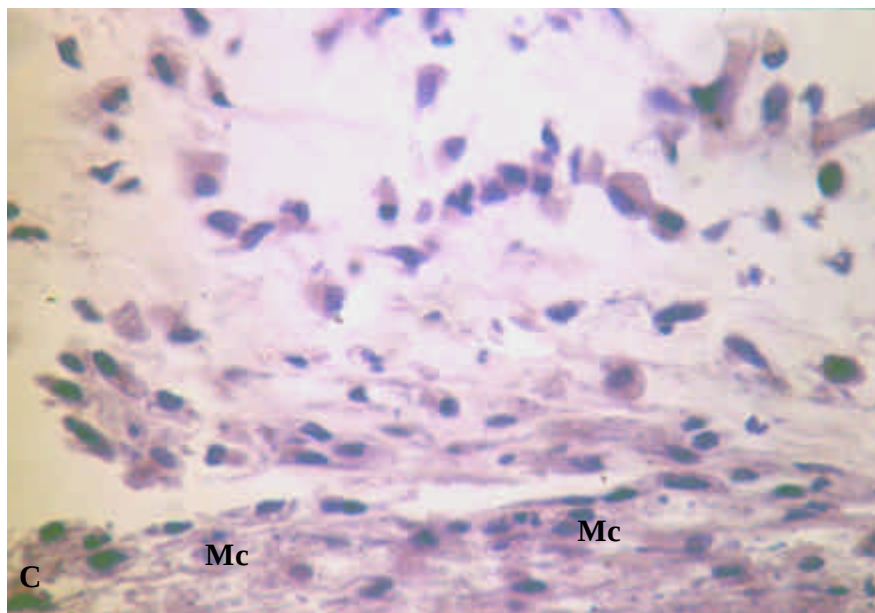


FIGURA 8 – EndoREZ[®] – 50 dias

C – Macrófagos (Mc) ativos.

H.E.±700X.

D – Detalhe de vasos mostrando hiperemia, marginação e diapedese (Hmd).

H.E.±700X.

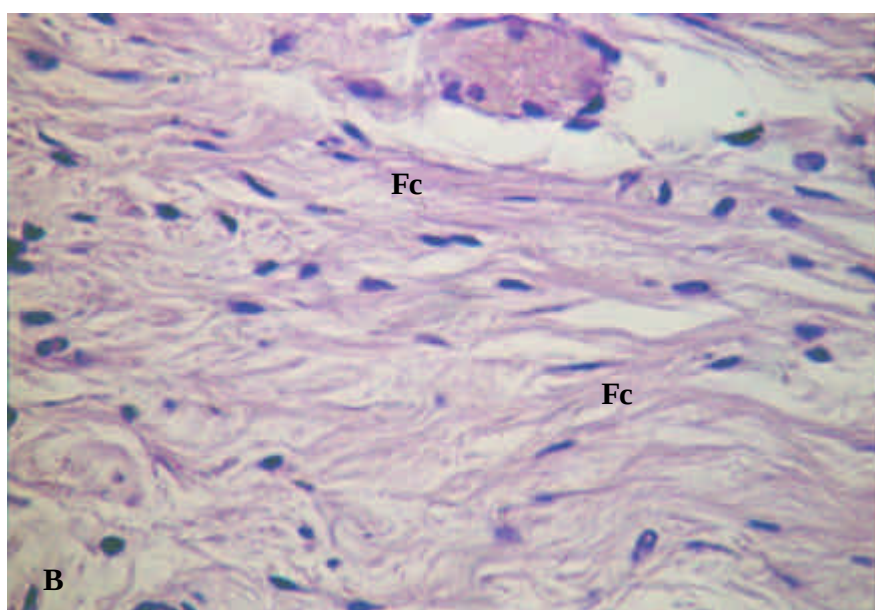
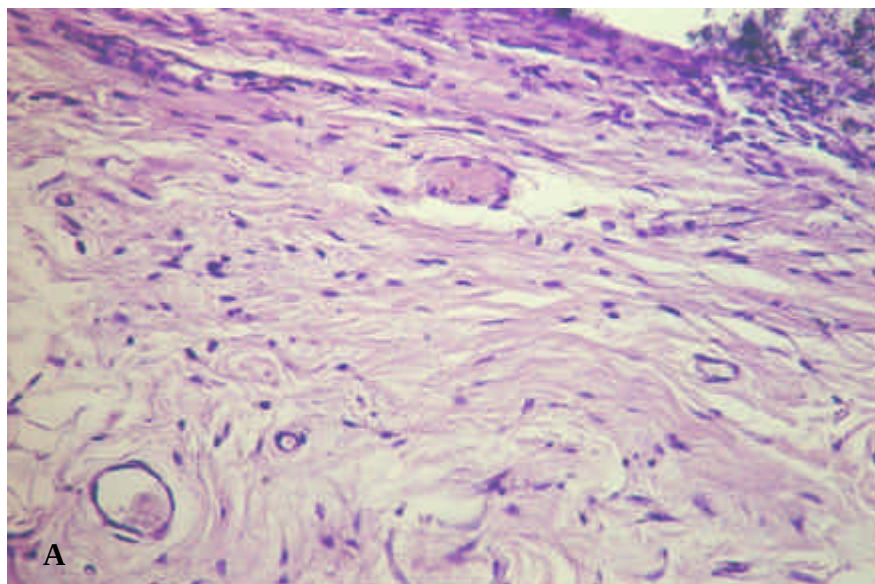


FIGURA 9 – Sealapex[®] – 50 dias

A – Visão geral do tecido conjuntivo na abertura do tubo.

H.E.±700X.

B – Fibras colágenas (Fc) dentro da normalidade.

H.E.±700X.

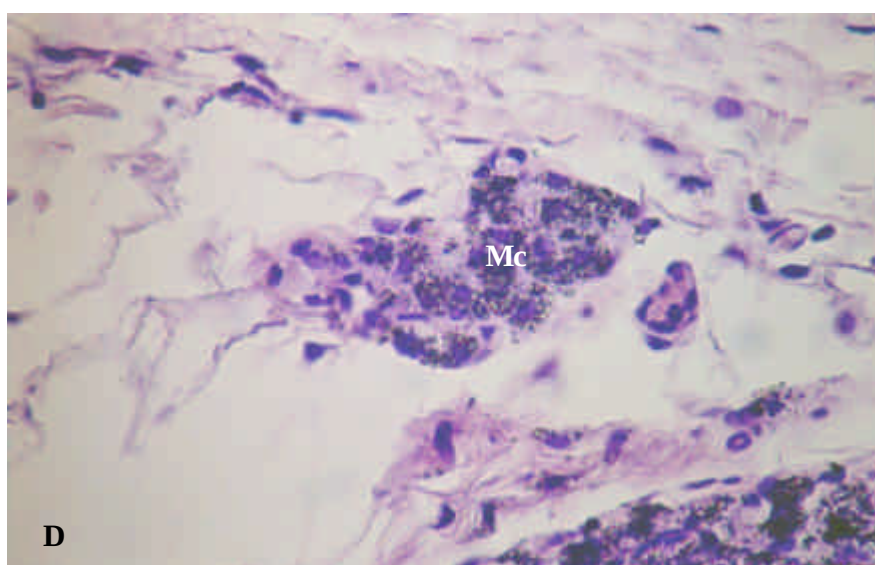
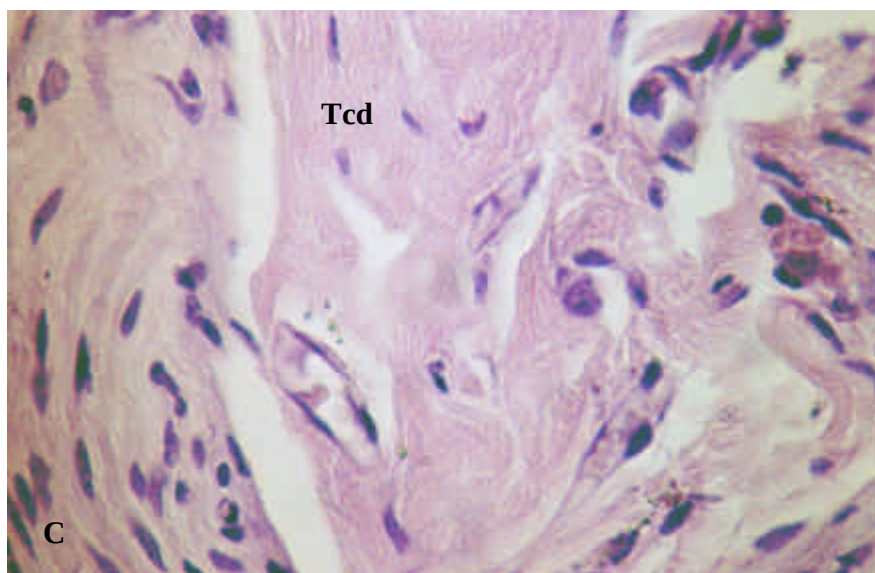


FIGURA 9 – Sealapex[®] – 50 dias

C – Tecido conjuntivo denso (Tcd) sem infiltrado inflamatório.

H.E.±700X.

D – Material dentro dos macrófagos (Mc) à distância da abertura do tubo.

H.E.±700X.

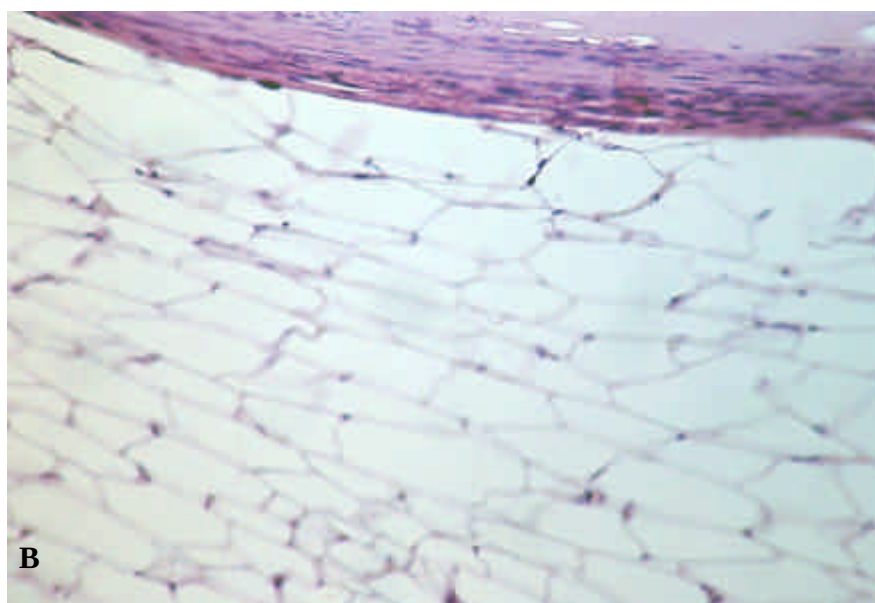
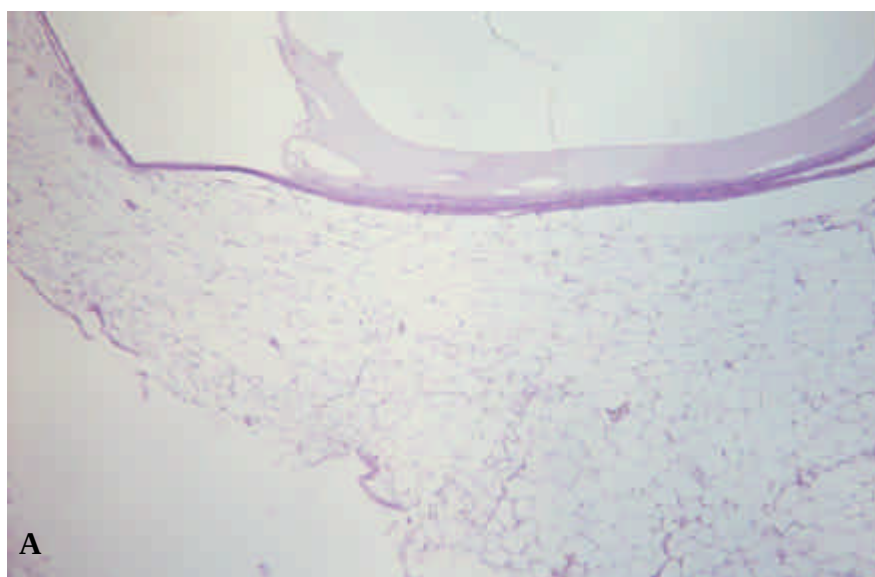


FIGURA 10 – Tubo vazio – 50 dias

A – Visão geral do tecido conjuntivo na abertura do tubo.

H.E., ±180X.

B – Tecido conjuntivo frouxo à distância formando uma rede de malhas esparsas.

H.E., ±340X.

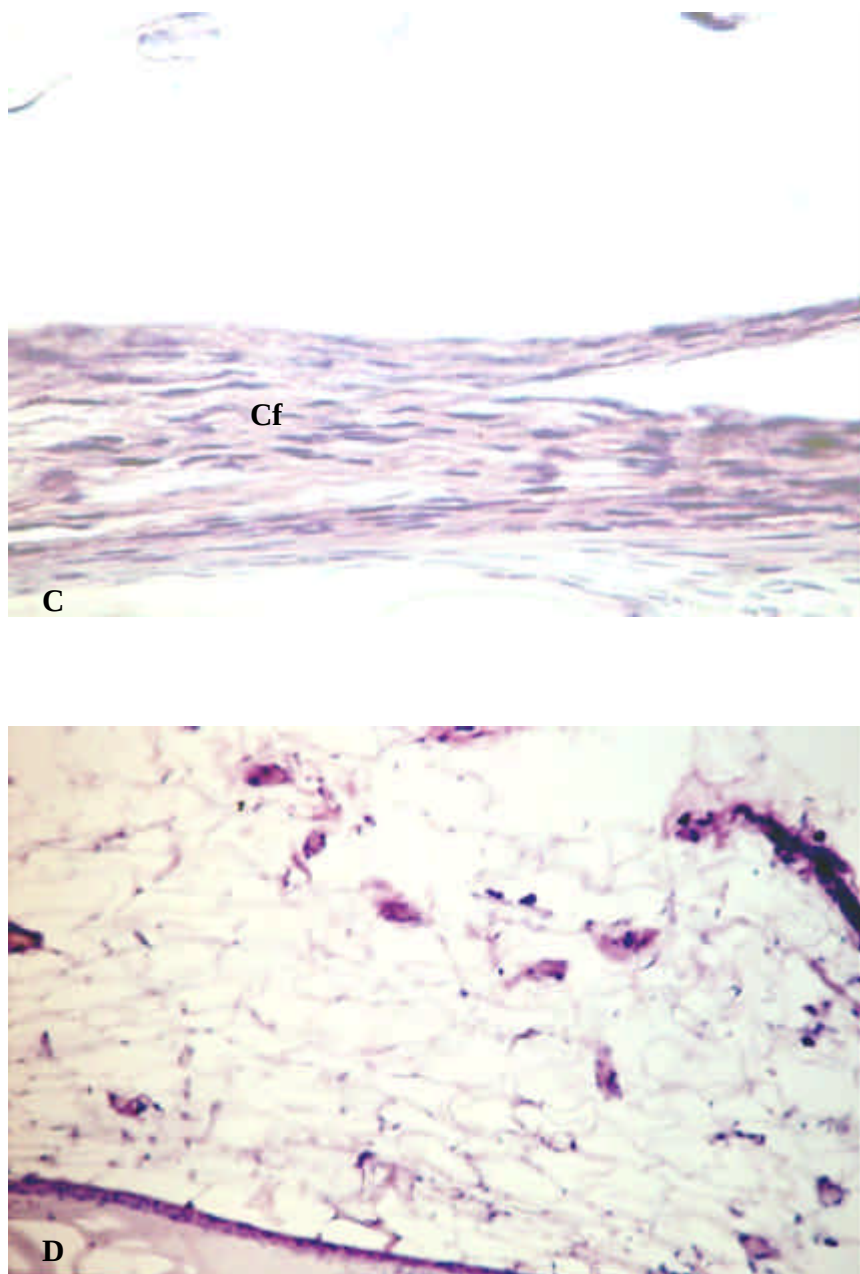


FIGURA 10 – Tubo vazio – 50 dias

C – Cápsula fibrosa (Cf) organizada sem infiltrado inflamatório.

H.E., ±700X.

D – Detalhe do tecido conjuntivo adjacente dentro da normalidade.

H.E., ±700X.

DISCUSSÃO

A- Metodologia

Os métodos que foram utilizados neste estudo são recomendados por organizações que buscam a uniformização e padronização dos testes, para que se tenha a possibilidade de comparar resultados, além de serem amplamente aceitos pela comunidade científica internacional.

O conceito de biocompatibilidade está mudando, durante muito tempo considerou-se tradicionalmente biocompatibilidade como sendo a falta de interação significativa entre contato material/tecidos. Hoje, sabe-se que muitos materiais são compatíveis quando introduzidos em um determinado local do organismo, mas respondem de uma maneira diferente em outros locais. Os materiais restauradores dentários constituem um bom exemplo desta dependência de local. Uma definição mais apropriada de biocompatibilidade seria a habilidade de um material reagir apropriadamente com a resposta do hospedeiro numa aplicação específica (WILLIAMS¹¹⁵, 1990). Por exemplo, os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol são bem tolerados quando introduzidos em cavidades intracoronárias, mas são altamente irritantes quando colocados em contato direto com o tecido conjuntivo (BROWNE¹², 1994). Assim, muitos testes têm sido sugeridos para avaliar a biocompatibilidade de materiais dentários reproduzindo o mais próximo possível as circunstâncias pretendidas para uso clínico destes materiais.

Cimentos obturadores de canais radiculares utilizados para preencher junto com um material sólido (guta-percha) o sistema de canais radiculares após o preparo biomecânico, podem manter contato direto material/tecido. Alguns desses cimentos largamente utilizados na Europa, Estados Unidos e Brasil, contêm um

componente tóxico na formulação como o paraformaldeído, levando à perpetuação da inflamação tecidual, além do conhecido poder carcinogênico e mutagênico que possuem (GEURTSEN; LEYHAUSEN²⁹, 1997; LEONARDO et al.⁶³, 1999; TAGGER et al.¹⁰⁵, 1988). Para evitar maiores consequências com a fabricação de cimentos obturadores de canais radiculares, existem normas da *Fédération Dentaire Internationale*⁹² e *International Standard-ISO*⁵¹, de 1997, nos documentos *ISO 10993*⁵⁰, de 1992, e no documento nº41 da *ADA/ANSI*¹⁰² de 1982 para avaliação biológica através de testes específicos em medicamentos e materiais dentários. Estes testes estão demonstrados na Tabela 8.

Tabela 8 – Testes recomendados para a avaliação biológica dos materiais dentários.

Teste inicial	Teste secundário	Teste de aplicação
1.Citotoxicidade	1.Irritação da membrana mucosa	1.Irritação da polpa
2.Hemólise	2.Toxicidade dérmica por exposição repetida	2.Capeamento pulpar/pulpotomia
3.Teste de Ames	3.Implantação subcutânea	3.Aplicação em Endodontia
4.Teste de Styles	4.Implantação em tecido ósseo	4.Implante dental
5.Dose letal	5.Sensibilização	
6.Toxicidade aguda (LD ₅₀ Oral)		
7.Toxicidade aguda (IP-LD ₅₀)		
8.Inalação aguda		

Diferentes metodologias, apresentando resultados controversos, têm avaliado a biocompatibilidade de cimentos obturadores de canais radiculares, como os implantes em tecido subcutâneo de ratos e cobaias, de diferentes maneiras, tais como em tubos de teflon (ECONOMIDES et al.²³, 1995); através de tubos de polietileno (HOLLAND, et al.⁴¹, 1971; TORNECK¹⁰⁹, 1966; TORNECK¹¹⁰, 1967),

em tubos de silicone (ZMENER et al.¹²⁰, 1990), em lamínulas de vidro (CAMARGO¹⁵, 1993), ou diretamente no tecido ósseo (PASCON et al.⁸³, 2001; PERTOT et al.⁸⁷, 1992), ou em culturas de células L929 (ARAKI et al.⁴, 1994), através da liberação de cromo (BARBOSA et al.⁶, 1993), por meio do teste *Skin Window* (BERBERT; CONSOLARO⁹, 1994), pela liberação de óxido nítrico (QUEIROZ⁹¹, 1997), através da liberação de peróxido de hidrogênio e alteração morfológica de macrófagos (LEONARDO⁶⁵, 1997).

Em um teste mais acurado de avaliação, seguindo a classificação da ISO^{50,51} e ADA/ANSI², podemos utilizar dentes de cães, tratando os canais radiculares dos mesmos e avaliando microscopica e/ou radiograficamente as reações biológicas. Os dentes de cães, apresentam grande semelhança no processo de reparo apical e periapical quando comparados aos dentes humanos (ORBAN⁷⁸, 1932), diferindo destes com relação ao ápice radicular, que nos dentes de cães apresentam de uma a 28 foraminas.

Para solucionar tal diferença anatômica, e tentando tornar esses dentes semelhantes aos dentes humanos, recomenda-se o arrombamento dessa estrutura (HOLLAND³⁹, 1975). Salienta-se, porém, o inconveniente desse arrombamento em dificultar a análise da magnitude da resposta inflamatória dessa região, em períodos iniciais de observação.

Outro animal largamente utilizado é o macaco, uma vez que a semelhança anatômica do ápice radicular é maior que a do cão, e em relação aos humanos, apresentam um processo de reparo muito rápido (HONG et al.⁴³, 1991). Porém, o alto custo, o difícil manuseio e as restrições de uso deste animal pelo Instituto de Proteção Ambiental (IBAMA), restringem o seu uso.

Os experimentos em tecido conjuntivo subcutâneo de rato, por ser uma técnica melhor controlada, com menor número de variáveis e padronizada, permitindo obter resultados em curto período de tempo, além do baixo custo, nos permite projetar, dentro de certos limites, o que poderia resultar os efeitos agressivos de materiais em tecido conjuntivo pulpar (COSTA¹⁶, 2001; ROWE⁹⁴, 1967). Além

disso, esse animal possui alta resistência (GUTTUSO³⁷, 1963) e é de fácil manipulação (ANUSAVICE³, 1998). Esse tipo de experimento tem sido recomendado pela *Fédération Dentaire Internationale*⁹² e *International Standard-ISO*⁵¹, como preliminares e indicativos para comparar o grau de irritabilidade dos materiais odontológicos.

Os tubos de polietileno, usados na metodologia empregada nesse trabalho, são indicados por alguns pesquisadores, como Tomeck^{109,110} em 1966 e 1967, e Philips⁸⁸ em 1993, os quais demonstraram a aceitabilidade desse material para a realização dos implantes em subcutâneo de ratos, largamente utilizados (COSTA et al.¹⁷, 2003; LEONARDO; LIA⁵⁹, 1976; OZBAS; DINDAR⁷⁹, 1996 e PASCON⁸², 2000; ZANONI et al.¹¹⁹, 1979). Essa avaliação dos materiais odontológicos e dos seus componentes, tanto como outras avaliações, são recomendadas antes desses serem indicados para uso clínico (OLSSON et al.^{76,77}, 1981). Esse teste permite uma padronização da área de contato tecido/material, dando a oportunidade de se comparar a biocompatibilidade de um material recentemente manipulado (KOLOKOURIS et al.⁵³, 1998).

A influência dos métodos é um fator de extrema importância. Pafferbarger⁸⁰ (1961) afirma, através da *American Dental Association*, que “a técnica de utilização de um material é tão importante quanto o próprio material, pelo simples fato de que uma técnica inferior pode arruinar ou danificar um material superior”. Dessa maneira, é consenso entre investigadores (LANGELAND et al.⁵⁵, 1988; OLSSON et al.^{76,77}, 1981; SPANGBERG¹⁰¹, 1973) que os materiais pesquisados devem ser manipulados e aplicados nos testes laboratoriais exatamente como são recomendados pelos fabricantes e como são utilizados na clínica diária. Considerando que os cimentos de obturação do canal radicular são preparados e introduzidos no canal na sua forma pastosa e, somente após sua introdução a presa é completada, o método para testá-lo deve permitir a fiel reprodução dessa condição (PASCON et al.⁸², 2000 e PASCON et al.⁸³, 2001).

A reação inflamatória observada para os grupos experimentais foi sempre mais intensa do que para o grupo controle e o cimento experimental em todos os períodos, apesar da mesma técnica cirúrgica ter sido empregada na implantação dos tubos de polietileno preenchidos com os materiais avaliados. Este evento histológico determinou que a técnica cirúrgica parece não ter influenciado decisivamente nos resultados observados. Portanto, as características citotóxicas inerentes aos componentes dos materiais avaliados determinaram a reação tecidual do animal.

B- Resposta tecidual

Os parâmetros adotados, visam o plano de corte histológico que passa pela abertura do tubo de polietileno incluindo toda interface entre o material e o tecido conjuntivo.

Segundo Ross et al.⁹³, em 1998, o tecido conjuntivo é constituído por células e fibras extracelulares envolvidas por uma matriz de substância fundamental e líquido tecidual, contendo vasos sanguíneos e nervos. Este tecido divide-se em tecido conjuntivo frouxo, que contém agregados de fibras colágenas dispostas frouxamente em cujos espaços abertos entre as fibras temos a substância fundamental, e muitas células, cuja maioria participa dos mecanismos de defesa do organismo, atuando no reconhecimento e destruição de antígenos e outras substâncias estranhas (reações imunológicas e inflamatórias). A maior parte dos tipos celulares presentes no tecido conjuntivo frouxo é de células transitórias que migram dos vasos sanguíneos locais, em resposta a determinados estímulos. E o tecido conjuntivo denso, que contém fibras mais espessas e numerosas, porém uma quantidade bem menor de células,

sendo as principais os fibroblastos (responsáveis pela produção e manutenção das fibras).

As células residentes ou regularmente presentes no tecido conjuntivo frouxo são: fibroblastos, macrófagos, mastócitos, plasmócitos e células mesenquimais indiferenciadas. Quanto às células transitórias que migram do sangue diante de um estímulo, temos os neutrófilos, eosinófilos, monócitos e linfócitos.

As fibras do tecido conjuntivo são de três tipos: as colágenas, são as principais e mais abundantes, sendo flexíveis e com grande força tênsil. Ao microscópio óptico, têm a aparência típica de estruturas semelhantes a ondas, de largura variável e comprimento indeterminado. Coram-se com Hematoxilina e Eosina, coloração de Mallory e na coloração de Masson. A fibra colágena é constituída por um feixe de subunidades finas e filamentosas que são chamadas fibrilas de colágeno. Um outro tipo de fibra, as reticulares, tem íntima relação com as fibras de colágeno por ambas serem constituídas de fibrilas de colágeno. Em coloração de rotina pela Hematoxilina e Eosina de cortes de material incluído em parafina, estas fibras não são identificáveis. Por fim, num terceiro tipo, encontramos as fibras elásticas, tipicamente mais delgadas que as colágenas, porém não são distinguidas das mesmas no tecido conjuntivo em preparados corados rotineiramente com Hematoxilina e Eosina.

A substância fundamental circunda as células e fibras do tecido conjuntivo. Não tem estrutura histológica e é por isso considerada amorfa, sendo constituída por proteoglicanas e glicosaminoglicanas de vários tipos.

O fibroblasto é uma célula que produz as fibras extracelulares e a substância fundamental do tecido conjuntivo. Nos locais em que está ocorrendo produção desses materiais extracelulares, como num processo de reparo, o citoplasma dos fibroblastos apresenta uma ligeira basofilia, devido à presença de grande quantidade de retículo endoplasmático granular. O núcleo do fibroblasto é comumente ovóide e um pouco achatado, apresentando cromatina finamente granular (heterocromatina) e um pequeno nucléolo. É a heterocromatina que responde pela

coloração que se sobressai no núcleo quando se utiliza Hematoxilina e Eosina. Os fibroblastos ativos são facilmente observados em microscópio óptico por apresentar núcleos grandes e de forma arredondada, com proeminentes nucléolos refletindo a síntese protéica ativa, no entanto são relativamente pouco corados, pois sua cromatina é amplamente dispersa, em contraste, as células inativas possuem cromatina condensada e portanto possuem núcleos pequenos e densamente corados.

Os macrófagos inativos são pequenos quando vistos em microscópio óptico, ao contrário, os ativos são arredondados e podem movimentar-se de forma amebóide através da substância fundamental. Quando exercem a função fagocitária, os macrófagos podem ser facilmente reconhecidos pelo seu grande tamanho e, às vezes pelo conteúdo do material englobado.

Os neutrófilos são altamente móveis e fagocitários, sendo sua principal função a resposta inflamatória aguda à lesão tecidual.

A agressão a um órgão ou tecido resulta em alterações progressivas na área lesada. Os principais sinais dessa resposta são vermelhidão, calor e edema. Esses sinais são conseqüentes às alterações vasculares na área da agressão e depende mais da intensidade do que do tipo do agente agressor (TROWBRIDGE; EMLING¹¹², 1996). A microcirculação no local da agressão fica repleta de sangue, caracterizando uma hiperemia ativa, ou seja, os vasos tornam-se permeáveis permitindo a saída de proteínas do fluido e plasma para os tecidos, caracterizando a exsudação, onde através de um microscópio óptico, observamos vacúolos no espaço intercelular, que são microabscessos preenchidos com líquido tissular que o sistema linfático não consegue drenar pela presença de macromoléculas.

O sistema imune é um maravilhoso e complexo sistema de defesa designado para reconhecer corpos estranhos e torná-los inofensivos, quer destruindo-os ou formando uma cápsula fibrosa envolvendo o corpo estranho, que nesse caso, foi o tubo e o material, com ou sem infiltrado inflamatório, daí ser considerada a formação dessa cápsula como critério de aceitabilidade do material (F.D.I.⁹², 1980; OLSSON et al.^{76,77}, 1981; TORNECK¹⁰⁹, 1966).

C- Materiais testados

Ficou clara e patente a compatibilidade biológica do cimento experimental derivado do polímero de mamona, acrescido de óxido de zinco como agente radiopacificador, que provocou reações inflamatórias que não foram além de moderadas, na maioria das vezes suave a nenhuma, semelhante ao observado com o grupo controle. Mesmo aos 7 dias, esse material apresentou, em comparação com os demais materiais avaliados, uma reação próxima à normalidade, indo de encontro com as observações de Olsson et al.^{76,77}, em 1981, que afirmaram que num período de 7 dias as reações inflamatórias atribuídas ao material ainda estão mascaradas pelas reações do ato cirúrgico durante o implante do tubo de polietileno no subcutâneo de ratos.

A biocompatibilidade do polímero de mamona pode ser explicada pelo fato deste polímero apresentar estrutura de alta pureza (Chierice*, 1994), não contendo solventes, detritos, estabilizadores e produtos de degradação presentes em outras poliuretanas, que seriam as responsáveis pelas respostas orgânicas adversas (MARCHANT et al.⁶⁸, 1986).

Chierice* (1994) constatou que a poliuretana de mamona pode ser utilizada na forma pura ou em associação com o carbonato de cálcio, apresentando uma reação exotérmica pequena, atingindo 42-45°C e, em contato com o meio líquido, ocorreu aumento de volume por reação primária com a água. O pH alcalino do carbonato de cálcio, poderia estimular uma resposta orgânica, liberando íons cálcio, ressaltando, também, que a substância básica do *Ricinus communis* é um ácido graxo, que teria o comportamento de um lípide, permitindo sua degradação por um mecanismo de lipólise. É importante salientar que o cimento experimental por nós testado, apresenta um radiopacificador (óxido de zinco), que se mostrou eficaz no

* CHIERICE, G.O. – Comunicação pessoal. Instituto de Química USP – São Carlos. 1996.

tocante à radiopacidade em testes laboratoriais por nós realizados, e que sua adição não alterou o comportamento biológico esperado do material. Assim, Pascon⁸² em 2000, observou que a simples troca do carbonato de cálcio pelo sulfato de bário, produto este utilizado para a obtenção de contraste radiográfico, diminuiu significativamente a toxicidade da poliuretana. Portanto, estudos de adição de componentes ou mesmo a interação deles, pode beneficiar biologicamente o cimento bem como melhorar suas propriedades físico-químicas, desde que bem determinadas em modelos experimentais bem elaborados. O estudo de componentes dos cimentos endodônticos de forma individual ou associado em pequenos grupos, pode ser o caminho para se obter o cimento obturador mais próximo do ideal, englobando as propriedades biológicas e físico-químicas.

Com o material EndoREZ[®], aos 7 e, até aos 50 dias, observamos a presença de infiltrado inflamatório moderado próximo ao material, caracterizando uma resposta celular talvez por algum componente do material, e presença de mononucleares, hiperemia com marginação leucocitária e diapedese aos 50 dias. Lançado recentemente pela Ultradent, as informações sobre o material foram obtidas através do site: <http://www.ultradent.com>, que segue no Anexo 3A.

Silva⁹⁷, em 2002, avaliou em cultura de células, a citotoxicidade do cimento EndoREZ[®], comparando-o com outros cimentos endodônticos quanto à liberação de peróxido de hidrogênio e óxido nítrico por macrófagos peritoneais de camundongos, observando os melhores resultados para o EndoREZ[®], quanto à liberação de óxido nítrico.

Quanto ao Sealapex[®], junto ao material implantado aos 7 dias, notou-se uma cápsula fibrosa de espessura discreta com uma grande população celular, com presença de macrófagos com partículas negras do material. Já aos 50 dias, o tecido conjuntivo próximo ao material mostrou-se denso, dentro da normalidade, e ainda observamos macrófagos ativos com partículas do material à distância da abertura do tubo, mostrando seu grau de dispersão através do tecido conjuntivo.

O Sealapex[®] tem se destacado por possuir excelentes propriedades biológicas e capacidade de induzir deposição de tecido mineralizado ao nível do forame apical, tanto nas biopulpectomias quanto em casos de necropulpectomias (BONETTI FILHO¹⁰, 1990; HOLLAND; SOUZA⁴⁰, 1985; LEONARDO et al.⁶⁰, 1995; SILVA⁹⁵, 1995). Sua solubilidade pós-presa, embora não comprometa sua propriedade seladora (SLEDER et al.⁹⁸, 1991), é vista por alguns como preocupante (FIDEL et al.²⁷, 1994). No entanto, para outros, essa relativa solubilidade é considerada como benéfica, uma vez que ocorre a substituição do cimento obturador por tecido mineralizado (LIM; TIDMARSH⁶⁷, 1986). Tagger e Tagger¹⁰⁴, em 1989, sugeriram, ainda, que a propriedade do cimento em ser reabsorvido, é uma vantagem quando de sua substituição por tecido mineralizado (TAGGER et al.¹⁰⁵, 1988; TRONSTAD et al.¹¹¹, em 1988).

Porém, o desejável, corresponde ao material que fisicamente desempenha satisfatoriamente seu papel e que, biologicamente, as células do organismo nem sequer reconheçam como elemento a ser fagocitado, como ocorreu com o cimento experimental da poliuretana derivada da mamona.

Com o Endofill[®], aos 7 dias, a cápsula fibrosa apresentou-se menos organizada, com presença de polimorfonucleares, em sua maior parte em degeneração. No tecido conjuntivo adjacente, observamos infiltrado inflamatório com presença de mononucleares. Contudo, aos 50 dias, a resposta tecidual ao implante assemelhou-se ao observado com o Sealapex, exceção feita ao conteúdo citoplasmático dos macrófagos.

O cimento de óxido de zinco e eugenol é um material rotineiramente usado como controle por ser bastante antigo e de propriedades bem conhecidas, sendo que muitos materiais, ainda em uso, baseiam-se nesse cimento. A literatura mostra resultados variáveis para esse cimento, devido às diferentes metodologias e consistências empregadas (GROSSMAN³², 1939; GRIEVE³¹, 1972; HOLLAND et al.⁴², 1996; LEAL et al.⁵⁷, 1988).

No que se refere a biocompatibilidade, este cimento não apresenta um comportamento favorável (BARBOSA et al.⁶, 1993; BONETTI¹⁰, 1990; YESILSOY et al.¹¹⁷, 1988;). O eugenol apresenta uma liberação mais rápida e intensa em ambientes úmidos. No tecido conjuntivo subcutâneo, a liberação do eugenol é mil vezes maior do que na dentina (HUME⁴⁵, 1986). Quando o óxido de zinco e eugenol é colocado em contato com tecido úmido, além do eugenol ter uma liberação mais rápida (HUME⁴⁶, 1984; HUME⁴⁷, 1988), ele atinge níveis tóxicos com facilidade após uma hora e trinta minutos, permanecendo ativo nos tecidos por cerca de cem horas (WILSON; BATCHELOR¹¹⁶, 1970).

Na inflamação, depois das primeiras 24 e 72 horas, período esse caracterizado pelos fenômenos vasculoexsudativos exuberantes com predomínio celular de polimorfonucleares, estabelece-se uma fase reparatória, desde que haja a resolução do processo, o que ocorre quando o agente agressor for eliminado ou, no mínimo, controlado, neste último caso, pode-se estabelecer uma resposta inflamatória crônica granulomatosa do tipo granuloma de corpo estranho (GUIMARÃES³⁴, 1982; GUIMARÃES; ALLE³⁵, 1974).

A persistência de um material obturador na região apical pode permitir o reparo ou até induzi-lo. Essa situação ocorre quando o potencial de agressão inexistente, o que é ideal para o restabelecimento da normalidade da região apical e periapical. A maioria dos materiais endodônticos obturadores permite um reparo, mas associado a uma resposta inflamatória mais ou menos duradoura, isso significa que o organismo está, de alguma forma, reconhecendo algo como estranho quando o material entra em contato com os tecidos apicais e /ou periapicais. Seria interessante que o organismo através de suas células não reconhecesse tal material e que, ao redor dele tal como no tecido normal, se estabelecesse o processo reparatório. Por outro lado, um reconhecimento fraco e ativo propiciaria a formação de granuloma do tipo corpo estranho, uma ocorrência não desejável para a reparação apical e periapical (COTRAN et al.²⁰, 1996).

De um modo geral, com exceção do cimento experimental e do grupo controle, os materiais implantados mostraram-se irritantes ao tecido conjuntivo subcutâneo de rato, provocando reações de diferentes intensidades e que sofreram variações com o passar do tempo. Assim, no período experimental de 7 dias o Sealapex[®], Endofill[®], e EndoREZ[®] provocaram uma reação tecidual classificada como moderada, discreta, e moderada respectivamente.

Embora o Endofill[®] tenha se mostrado um irritante tecidual inicialmente, onde caracterizou-se a formação de uma cápsula fibrosa com um discreto infiltrado inflamatório, o que atribui o poder irritante do eugenol que atua inicialmente sobre o tecido, sendo aos poucos eliminado, permitindo um reparo, embora mais lento, normal após um certo período de tempo, concordando com os achados de Mittal et al.⁷², 1995; Gulati et al.³⁶, em 1991 e Barbosa et al.⁶, 1993.

Este estudo mostrou inicialmente um infiltrado inflamatório moderado do cimento EndoREZ[®], nos dois períodos analisados, e a boa compatibilidade biológica do cimento experimental derivado do polímero de mamona, que provocou reações inflamatórias que não foram além de discretas, sendo na maioria das vezes suave a nenhuma. Isto também vem mostrar o grau de compatibilidade do material radiopacificador por nós testado (óxido de zinco), incentivando a continuidade de outros testes para, enfim, chegarmos próximo ao cimento endodôntico ideal.

Conclusão

Considerando as condições desse trabalho, avaliando os resultados obtidos, concluímos que:

- O cimento experimental derivado do polímero de mamona foi o melhor material, mostrando através dos resultados histológicos, grandes possibilidades de ser utilizado como cimento obturador do sistema de canais radiculares.

- O cimento resinoso EndoREZ[®], mostrou-se satisfatório, necessitando porém de maiores investigações por se tratar de um material lançado recentemente no mercado.

Referências*

- 1- ALMEIDA, W.A. **Cimentos obturadores de canais radiculares. Avaliação histológica da resposta dos tecidos apicais e periapicais em dentes de cães, após biopulpectomia. Estudo da infiltração marginal apical.** 1997. 192f. Tese (Doutorado em Endodontia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1997.
- 2- AMERICAN DENTAL ASSOCIATION - ADA. Council on Dental Materials and Devices. Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. **J.Am.Dent.Assoc.**, Chicago, v.84, n.2, p.382-387, Feb. 1972.
- 3- ANUSAVICE, K.J. Biocompatibilidade dos materiais dentários. In:__. **Phillips – materiais dentários.** 10.ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1998. cap.5, p.44-47.
- 4- ARAKI, K.; SUDA, H.; BARBOSA, S.V.; SPÄNGBERG, L.S.W. Reduced cytotoxicity of a root canal sealer through eugenol substitution. **J. Endod.**, Baltimore, v.19, n.11, p.554-557, Nov. 1993.
- 5- ARAÚJO, C.A.; TEÓFILO, J.M.; BRENTAGANI, L. Cronologia do reparo alveolar do rato após implante de *ricinus communis*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS. 1996, Águas de São Pedro. **Anais...Águas de São Pedro**: SBPqO, 1996. p.120. Resumo 169.

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

- 6- BARBOSA, S.V.; ARAKI, K.; SPÄNGBERG, L.S.W. Citotoxicity of some modified root canal sealers and their leachable components. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol**, St. Louis, v.75, n.3, p.357-361, Mar. 1993.
- 7- BELTES, P.; KOULAOUZIDOU, E.; KOTOULA, V.; KORTSARIS, A.H. *In vitro* evaluation of the cytotoxicity of calcium hydroxide-based root canal sealers. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v.11, n.5, p.245-249, Oct. 1995.
- 8- BERBERT, A.; BRAMANTE, C.M.; BERNARDINELLI, N. **Endodontia prática**. São Paulo: Sarvier, 1980, p.76-78.
- 9- BERBERT, C.C.V.; CONSOLARO, A. Influência de cimentos endodônticos na irrigação neutrofílica pelo teste "Skin Window". **Rev. Fac. Odontol. Bauru**, Bauru, v.2, n.2, p.81-87, abr./jun. 1994.
- 10- BONETTI FILHO, I. **Avaliação da biocompatibilidade de quatro técnicas de obturação de canais radiculares. estudo em dentes de cães**. 1990. 110f. Tese (Doutorado em Endodontia)-Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1990.
- 11- BONETTI FILHO, I; LEONARDO, M.R.; GUIDOTTI, P.C.; LOFFREDO, L.C.M. Capacidade seladora de novos cimentos obturadores. **RGO**, Porto Alegre, v.43, n.4, p.221-224, jul./ago. 1995.
- 12- BROWNE, R.M. Animal testes for biocompatibility of dental materials- relevance, advantages and limitations. **J. Dent.**, Guildford, v.22, suppl.2, p.S21-24, Aug. 1994.

- 13-CAICEDO, R. von FRAUNHOFER, J.A. The properties of endodontic sealer cements. **J. Endod.**, Baltimore, v.14 n.11, p.527-534, Nov. 1988.
- 14-CALIXTO, R.F.E.; TEÓFILO, J.M.; BRENTGANI, L.G.; LAMANO CARVALHO, T.L. Implante de um floculado de resina de mamona em alvéolo dental de rato. **Pesqui. Odontol. Bras.**, São Paulo, v.15, n.3, p.257-262, jul./set. 2001.
- 15-CAMARGO, W.R. **Interação dos cimentos Sealapex e CRCs com os macrófagos: estudo morfológico dos efeitos citotóxicos.** 1993. 96f. Dissertação (Mestrado em Endodontia)-Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, Bauru, 1993.
- 16-COSTA, C.A.S. Testes de biocompatibilidade dos materiais odontológicos. In: ESTRELA, C. **Metodologia científica: ensino e pesquisa em odontologia.** São Paulo: Artes Médicas Ltda, 2001. cap. 10, p.164-169.
- 17-COSTA, C.A.S.; BACALHAU, J.T.; HEBLING, J. Estudo preliminar da biocompatibilidade de diferentes cimentos utilizados na terapia pulpar. **RPG-Rev. Pós. Grad.**, São José dos Campos, v.10, n.1, p.25-36, jan./mar. 2003.
- 18-COSTA, C.A.S.; BENATTI NETO, C.; GONZAGA, H.F.S.; HEBLING, J. Compatibilidade biológica do tecido conjuntivo subcutâneo de rato ao implante de cimento de óxido de zinco e eugenol (OZE) variando a proporção pó/líquido. **Odontol. Clin.**, São Paulo, v.2, n.4, p.97-103, jul./dez. 1994.

- 19-COSTA, C.A.S.; MARCANTONIO, R.A.C.; HEBLING, J.; TEIXEIRA, H.M.; KURAMAE, M. Biocompatibilidade do polímero de poliuretana vegetal derivada do óleo de mamona em estudo comparativo com cimento de óxido de zinco e eugenol. Avaliação histopatológica de implantes subcutâneos de ratos. **Odonto** 2000, Araraquara, v.1, n.1, p.44-48, 1997.
- 20-COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. Inflamação e reparação. In:___**Patologia estrutural e funcional**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. cap.3, p.45-83.
- 21-DE DEUS, Q.D. Obtenção dos canais radiculares. In:___ **Endodontia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1976. cap.13, p.441.
- 22-DIXON, C.M.; RICKERT, U.G. Tissue tolerance to foreign materials. **J.Am.Dent.Assoc.**, Chicago, v.20, p.1458-1472, Aug. 1933.
- 23-ECONOMIDES, N.; KOTSAKI-KOVATSI, V.P.; POULOPOULOS, A.; KOLURIS, I.; ROZOS, G.; SHORE, R. Experimental study of the biocompatibility of four root canal sealers and their influence on the zinc and calcium content of several tissues. **J. Endod.**, Baltimore, v.21,n.3, p.122-127, Mar. 1995.
- 24-ERSEV, H.; SCHMALZ, G.; BAYIRLI, G.; SCHWEIKL, H. Cytotoxic and mutagenic potencies of various root canal filling materials in eukaryotic and prokaryotic cells *in vitro*. **J. Endod.**, Baltimore, v.25, n.5, p.359-363, May 1999.

- 25-FERREIRA, C.M.; BONIFÁCIO, K.C.; FRÖNER, I.C.; ITO, I.Y. Evaluation of the anti microbial activity of three irrigating solution in the pulpal necrosy. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v.10, n.1, p.15-21, 1999.
- 26-FERREIRA, C.M.; ROSA, O.P.S.; TORRES, S.A.; FERREIRA, F.B.A.F.; BERNARDINELLI, N. Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacteria. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v.13, n.2, p.118-122, 2002.
- 27-FIDEL, R.A.S.; SPANÓ, J.C.E.; BARBIN, E.L.; SILVA, R.G.; PÉCOR, J.D. Estudo “in vitro” sobre a solubilidade e a desintegração de alguns cimentos endodônticos que contém hidróxido de cálcio. **Rev. Odontol. Univ. São Paulo**, São Paulo, v.8, n.3, p.217-220, jul./set. 1994.
- 28-FISHER, W.S. Some additional factors to be considered in determining the ideal type of root-filling material, with practical results. **Dent. Cosmos**, Philadelphia, v.69, n.12, p.1252-1259, Dec. 1927.
- 29-GEURTSEN, W.; LEYHAUSEN, G. Biological aspects of root canal filling materials- histocompatibility, cytotoxicity, and mutagenicity. **Clin. Oral Invest.**, Berlin, v.1, n.1, p.5-11, Feb. 1997.
- 30-GÖRDUYSUS, M. Ö.; ETIKAN, I.; GOKOZ, A. Histopathological evaluation of the tissue reactions to Endo-fill root canal sealant and filling material in rats. **J. Endod.**, Baltimore, v.24, n.3, p.194-196, Mar. 1998.
- 31-GRIEVE, A.R. Sealing properties of cements used in root filling. **Br. Dent. J.**, London, v.132, n.1, p.19-22, Jan. 1972.

- 32-GROSSMAN, L.I. A study of temporary fillings as hermetic sealing agents. **J. Dent. Res.**, Whashington, DC, v.18, n.1-2, p.67-71, Feb./Apr. 1939.
- 33-GUIGAND, M.; PELLEN-MUSSI, P.; GOFF, A.L.; VULCAIN, J.M.; BONNAURE-MALLET, M. Evaluation of the cytocompatibility of three endodontic materials. **J. Endod.**, Baltimore, v.25, n.6, p.419-423, June 1999.
- 34-GUIMARÃES, S.A.C. **Patologia básica da cavidade bucal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982.
- 35-GUIMARÃES, S.A.C.; ALLE, N. Estudo histoquímico da reação tecidual ao hidróxido de cálcio. **Estomat. Cult.**, Bauru, v.8, n.1, p.79-82, jan./jun. 1974.
- 36-GULATI, N.; CHANDRA, S.; AGGARWAL, P.K.; JAISWAL, J.N.; SINGH, M. Cytotoxicity of eugenol in sealer containing zinc oxide. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v.7, n.4, p.181-185, Aug. 1991.
- 37-GUTTUSO, J. Histopathologic study of rat connective tissue responses to endodontic materials. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v.16, n.6, p.713-727, June 1963.
- 38-HETEM, S.; KANNO, C.M.; MATHEUS, M.T.G. Testes de biocompatibilidade de materiais odontológicos seladores de canais radiculares em germes dentais *in vitro*. **Rev. Odontol. UNESP**, São Paulo, v.22, n.2, p.175-185, jul./dez. 1993.

- 39-HOLLAND, R. **Processo de reparo do coto pulpar e dos tecidos periapicais após biopulpectomias e obturação do canal radicular com hidróxido de cálcio ou óxido de zinco e eugenol. Estudo histológico em cães.** 1975. 94f. Tese (Doutorado em Endodontia)-Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Araçatuba, 1975.
- 40-HOLLAND, R.; SOUZA, V. Ability of a new calcium hydroxide root canal filling material to induce hard tissue formation. **J. Endod.**, Baltimore, v.11, n.12, p.535-543, Dec. 1985.
- 41-HOLLAND, R.; SOUZA, V.; HOLLAND Jr., C.; NERY, M.J. Estudo histológico do comportamento do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante de alguns materiais obturadores de canal radicular. Influência da proporção pó/líquido. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v.25, n.1, p.101-110, jan./fev. 1971.
- 42-HOLLAND, R.; MURATA, S.S.; SOUZA, V.; LOPES, H.P.; SALIBA, O. Análise do selamento marginal obtido com cimentos à base de hidróxido de cálcio. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v.50, n.1, p.61-64, jan./fev. 1996.
- 43-HONG, Y.C.; WANG, J.T.; HONG, C.Y.; BROWN, W.E.; CHOW, L.C. The periapical tissue reactions to a calcium phosphate in the teeth of monkeys. **J. Biomed. Mater. Res.**, New York, v.25, n.4, p.485-498, Apr. 1991.
- 44-HUANG, T.H.; LEE, H.; KAO, C.T. Evaluation of the genotoxicity of zinc oxide eugenol-based, calcium hydroxide-based, and epoxy resin-based root canal sealers by comet assay. **J. Endod.**, Baltimore, v.27, n.12, p.744-748, Dec. 2001.

- 45-HUME, W.R. The pharmacologic and toxicological properties of zinc oxide-eugenol. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.113, n.5, p.789-791, Nov. 1986.
- 46-HUME, W.R. An analysis of the release and the diffusion through dentin of eugenol from zinc oxid-eugenol mixtures. . **J. Dent. Res.**, Whashington, DC, v.63, n.6, p.881-884, June 1984.
- 47-HUME, W.R. *In vitro* studies on the local pharmacodynamics, pharmacology and toxicology of eugenol and zinc oxide-eugenol. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.21, n.2, p.130-134, Mar. 1988.
- 48-IGNÁCIO, H. **Utilização do cimento derivado do polímero da mamona no preenchimento da falha óssea. Estudo experimental em coelhos.** 1995. 96f. Dissertação (Mestrado em Ortopedia e Traumatologia) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1995.
- 49-INGLE, J.I. et al., Obturação do espaço radicular. In: Ingle, J.I. **Endodontia.** Rio de Janeiro: Ed. Interamericana Ltda, 1979. cap.4, p.208.
- 50-INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION – ISO. Biological evaluation of medical devices. Genève: ISO 10993-3, p.2-7, 1992.
- 51-INTERNATIONAL STANDARD - ISO 7405:1997(E). Dentistry-Preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry-Test methods for dental materials. Genève, Switzerland 1997.
- 52-KAMINSKI, E.J.; OGLESBY, R.J.; WOOD, N.K.; SANDRIK, J. The behavior of biological materials at different sites of implantation. **J. Biom. Mater. Res.**, New York, v.2, n.1, p.81-88, Mar. 1968.

- 53-KOLOKOURIS, I.; ECONOMIDES, N.; BELTES, P.; VLEMMAS, I. *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.82-85, Feb. 1998.
- 54-KOULAOUZIDOU, E.A.; PAPAZISIS, K.T.; BELTES, P.; GEROMICHALOS, G.D.; KORTSARIS, A.H. Cytotoxicity of three resin-based root canal sealers: an *in vitro* evaluation. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v.14, n.4, p.182-185, Aug. 1998.
- 55-LANGELAND, K.; PASCON, E.A.; LOUW, N.P.; ZHANG, X.Z. Quantitative ranking of biocompatibility of endodontic sealing materials. **J. Dent. Res.**, Whashington, DC, v.67, n.4, p.780, Apr. 1988. Abstract 50.
- 56-LEAL, J.M. Obturação dos canais radiculares. In: LEONARDO, M.R., LEAL, J.M. **Endodontia**: tratamento de canais radiculares. 3.ed. São Paulo: Ed. Medica Panamericana, 1998. cap.25, p.535-545.
- 57-LEAL, J.M.; HOLLAND, R.; ESBERARD, R.M. Sealapex, C.R.C.S., Fill Canal e N-Rickert, estudo da biocompatibilidade em tecido conjuntivo subcutâneo do rato. **Odontol. Clin.**, São Paulo, v.2, n.1, p.7-14, jan./mar. 1988.
- 58-LEONARDO, M.R. Aspectos anatômicos da cavidade pulpar. In: LEONARDO, M.R.; LEAL, J.M. **Endodontia**: tratamento de canais radiculares. 3.ed. São Paulo: Ed. Medica Panamericana, 1998. cap.9, p.191-214.

- 59-LEONARDO, M.R.; LIA, R.C.C. Compatibilidade biológica de compostos à base de hidróxido de cálcio (hidróxido de cálcio + polietilenoglicol; hidróxido de cálcio + polietilenoglicol + subnitrito de bismuto (contraste) e catalisador do Dycal). In: JORNADA ODONTOLÓGICA “PROF. DR. LUIZ FERREIRA MARTINS”, 30, Araraquara, 1976. **Resumo**. Araraquara, 1976. p.47-49.
- 60-LEONARDO, M.R.; ALMEIDA, W.A.; SILVA, L.A.B.; UTRILLA, L.S. Histopathological observations of periapical repair in teeth with radiolucent áreas submitted to two different methods of root canal treatment. **J. Endod.**, Baltimore, v.21, n.3, p.137-141, Mar. 1995.
- 61-LEONARDO, M.R.; SILVA, L.A.B. Medicação tópica entre sessões, “curativo de demora” em biopulpectomia e necropulpectomias I e II. In: LEONARDO, M.R., LEAL, J.M. **Endodontia**: tratamento de canais radiculares. 3.ed. São Paulo: Ed. Medica Panamericana, 1998. cap.24, p.491-534.
- 62-LEONARDO, M.R.; SILVA, L.A.B.; ALMEIDA, W.A.; UTRILLA, L.S. Tissue response to an epoxy resin-based root canal sealer. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v.15, n.1, p.28-32, Feb. 1999.
- 63-LEONARDO, M.R.; SILVA, L.A.B.; TANOMARU FILHO, M., SILVA, R.S. Release of formaldehyde by 4 endodontic sealers. **Oral Surg. Oral med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v.88, n.2, p. 221-225, Aug. 1999.
- 64-LEONARDO, M.R.; SILVA, L.A.B.; UTRILLA, L.S.; ASSED, S.; ETHER, S.S. Calcium hydroxide root canal sealers-histopathologic evaluation of apical and periapical repair after endodontic treatment. **J. Endod.**, Baltimore, v.23, n.7, p.428-432, July 1997.

- 65-LEONARDO, R.T. **Avaliação da citotoxicidade de cimentos endodônticos, quanto à alteração morfológica e a liberação de peróxido de hidrogênio, em culturas de macrófagos peritoneais de camundongos.** 1997. 158f. Tese (Doutorado em Patologia)-Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, Bauru, 1997.
- 66-LILLIE, R.D. **Histopathologic technic and practical histochemistry.** New York: McGraw Hill, 1954.
- 67-LIM, K.C.; TIDMARSH, B.G. The sealing ability of Sealapex compared with AH 26. **J. Endod.**, Baltimore, v.12, n.12, p.564-566, Dec. 1986.
- 68-MARCHANT, R.E.; ANDERSON, J.M.; HILTNER, A.; CASTILLO, E.J.; GLEIT, J.; RATNER, B.D. The biocompatibility of solution cast and acetone-extracted cast Biomer. **J. Biomed. Mater. Res.**, New York, v.20, n.6, p.799-815, July/Aug. 1986.
- 69-MARSHALL, F.J.; MASSLER, M. The sealing of pulpless teeth evaluated with radioisotopes. **J. Dent. Med.**, New York, v.16, n.4, p.172-184, Oct. 1961.
- 70-MAURÍCIO, C.V. **Estudo histomorfológico do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante de pastas à base de hidróxido de cálcio, contidas em tubos de dentina humana.** 1980. 75f. Dissertação (Mestrado em Dentística Restauradora)-Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1980.
- 71-MITCHELL, D.F. The irritation qualities of dental materials. **J.A.D.A.**, Chicago, v.59, p.954-966, Nov. 1959.

- 72-MITTAL, M.; CHANDRA, S.; CHANDRA, S. Comparative tissue evaluation of four endodontic sealers. **J. Endod.**, Baltimore, v.21, n.12, p.622-624, Dec. 1995.
- 73-MOLLOY, D.; GOLDMAN, M.; WHITE, R.R.; KABANI, S. Comparative tissue of a new endodontic sealer. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v.73, n.4, p.490-493, Apr. 1992.
- 74-MOORER, W.R.; GENET, J.M. Evidence for antibacterial activity of endodontic gutta-percha cones. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v.53, n.5, p.508-517, May 1982.
- 75-OHARA, G.H.; KOJIMA, K.E.; ROSSI, J.C. Estudo experimental da biocompatibilidade do polímero poliuretano da mamona implantada intra-óssea e intra-articular em coelhos. **Acta Ortop. Bras.**, São Paulo, v.3, n.2, p.62-68, abr./jun. 1995.
- 76-OLSSON, B.; SLIWKOWSKI, A.; LANGELAND, K. Intraosseus implantation for biological evaluation of endodontic materials. **J. Endod.**, Baltimore, v.7, n.8, p.253-265, Aug. 1981b.
- 77-OLSSON, B.; SLIWKOWSKI, A.; LANGELAND, K. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. **J. Endod.**, Baltimore, v.7, n.8, p.355-367, Aug. 1981a.
- 78-ORBAN, B. The problem of root canal treatment. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.19, n.8, p.1384-1388, Aug. 1932.

- 79-ÖZBAS, H.; DINDAR, S. Histopathological evaluation of tissue reactions to titanium dioxide in comparison with calcium hydroxide. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.29, n.3, p.206, May 1996. (Abstract).
- 80-PAFFENBARGER, G.C. List of certified dental materials. In: **American dental association specifications for dental materials**. 4.ed., Chicago, American Dental Association, 1961, p.69.
- 81-PASCON, E.A.; LEONARDO, M.R.; SAFAVI, K.E.; LANGELAND, K. Tissue reaction to endodontic materials: methods, criteria, assessment, and observations. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v.72, n.2, p.222-237, Aug. 1991.
- 82-PASCON, E.A.; SOUSA, C.J.A.; LANGELAND, K. Biocompatibilidade de materiais endodônticos. Resposta do tecido subcutâneo de cobaias à resina poliuretana derivada do óleo de mamona - Parte 2. **Rev. ABO Nac.**, São Paulo, v.8, n.2, p.283-295, abr./mai. 2000.
- 83-PASCON, E.A.; SOUSA, C.J.A.; LANGELAND, K. Biocompatibilidade de materiais endodônticos. Resposta do tecido ósseo de cobaia à resina poliuretana derivada do óleo de mamona - Parte 3. **Rev. ABO Nac.**, São Paulo, v.8, n.6, p.356-368, dez. 2000/jan. 2001 2001.
- 84-PASCON, E.A.; SOUSA, C.J.A.; MARTINELLI, F.; LANGELAND, K. Biocompatibilidade de materiais endodônticos. Citotoxicidade da resina poliuretana derivada do óleo de mamona - Parte 1. **Rev. ABO Nac.**, São Paulo, v.8, n.4, p.238-246, ago./set. 2000.

- 85-PENNA, M. **Notas sobre plantas brasileiras.** Rio de Janeiro: Araújo Penna Filhos, 1921.
- 86-PERASSI, F.T. **Liberação de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) em cultura de macrófagos peritoneais de camundongos na presença de cimentos endodônticos.** 2000. 135f. Dissertação (Mestrado em Endodontia)-Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.
- 87-PERTOT, W.J.; CAMPS, J.; REMUSAT, M.; PROUST, J.P. *In vivo* comparison of the biocompatibility of two root canal sealers implanted into the mandibular bone of rabbits. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v.73, n.5, p.613-620, May 1992.
- 88-PHILIPS, R.W. **Materiais dentários de skinner.** 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.
- 89-PROVÊNCIO, A.S.F. **Estudo de pastas à base de hidróxido de cálcio, utilizadas para obturação de canais radiculares. Avaliação histopatológica.** 1982. 142f. Dissertação (Mestrado em Dentística Restauradora)-Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1982.
- 90-PURICELLI, E.; BARALDI, C.E.; PONZONI, D.; PESCHKE, R. Estudo histológico do polímero poliuretano da mamona implantado no ângulo mandibular de ratos. **Rev. Fac. Odontol. Porto Alegre**, Porto Alegre, v.40, n.1, p.37-40, set. 1999.

- 91-QUEIROZ, C.E.S. **Avaliação da citotoxicidade de cimentos endodônticos quanto à liberação de peróxido de hidrogênio e óxido nítrico em culturas de macrófagos peritoneais de camundongos.** 1997. 133f. Dissertação (Mestrado em Endodontia)-Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1997.
- 92-Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. Fédération Dentaire International, Commission of Dental Materials Instruments, Equipment and Therapeutics. **Int. Dent. J.**, London, v.30, n.2, p.140-188, 1980.
- 93-ROSS, M.H.; REITH, E.J.; ROMRELL, L.J. **Histologia texto e atlas.** 2.ed. Ed. Panamericana: São Paulo, 1998. cap.5, p.85.
- 94-ROWE, A.H.R. Reaction of the rat molar pulp to various materials. **Br. Dent. J.**, London, v.122, n.7, p.291-300, Apr. 1967.
- 95-SILVA, L.A.B. **Cimentos obturadores de canal radicular à base de hidróxido de cálcio – avaliação histopatológica do reparo apical e periapical em dentes de cães, da resposta inflamatória em tecido subcutâneo e da migração celular em cavidade peritoneal de camundongos. análise do pH, concentração de cálcio total e condutividade.** 1995. 191f. Tese (livre-Docência) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1995.

- 96-SILVA, M.J.A.; TAVANO, O.; GUIMARÃES, S.A.C.; GOMES, M.F. Estudo do comportamento do tecido ósseo frente ao implante do polímero de mamona em raios de coelhos, pela análise quantitativa das radiopacidades nas imagens radiográficas convencionais. **Rev. Fac. Odontol. Bauru**, Bauru, v.5, n.3/4, p.69-77, jul./dez. 1997.
- 97-SILVA, P.T. **Avaliação da citotoxicidade de cimentos endodônticos quanto à liberação de peróxido de hidrogênio e óxido nítrico em culturas de macrófagos peritoneais de camundongos**. 2002. 130f. Dissertação (Mestrado em Endodontia)- Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2002.
- 98-SLEDER, F.S.; LUDLOW, M.O.; BOHACEK, J.R. Long term sealing ability of a calcium hydroxide sealer. **J. Endod.**, Baltimore, v.17, n.11, p.541-543, Nov. 1991.
- 99-SOARES, I.; GOLDBERG, F.; MASSONE, E.J.; SOARES, M. Periapical tissue response to two calcium hydroxide-containing endodontic sealers. **J. Endod.**, Baltimore, v.16, n.4, p.166-169, Abr. 1990.
- 100-SPANGBERG, L.S.W.; BARBOSA, S.V.; LAVIGNE, G.D. AH 26 releases formaldehyde. **J. Endod.**, Baltimore, v.19, n.12, p.596-598, Dec. 1993.
- 101-SPANGBERG, L.S.W.; LANGELAND, K. Biologic effects of dental materials. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v.35, n.3, p.402-414, Mar. 1973.
- 102-STANLEY, H.R. Biological evaluation of dental materials. **Int. Dent. J.**, London, v.42, n.1, p.37-46, Feb. 1992.

- 103-STEWART, G.G. A comparative study of three root canal sealing agents. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v.11, n.9, p.1029-1041, Sep. 1958.
- 104-TAGGER, M.; TAGGER, E. Periapical reactions to calcium hydroxide-containing sealers and AH 26 in monkeys. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v.5, n.3, p.139-146, June 1989.
- 105-TAGGER, M.; TAGGER, E.; KFIR, A. Release of calcium and hydroxyl ions from set endodontic sealers containing calcium hydroxide. **J. Endod.**, Baltimore, v.14, n.12, p.588-591, Dec. 1988.
- 106-TANOMARU FILHO, M.; LEONARDO, M.R.; SILVA, L.A.B.; UTRILLA, L.S. Effect of different root canal sealers on periapical repair of teeth with chronic periradicular periodontitis. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.31, n.2, p.85-89, Mar. 1998.
- 107-TEIXEIRA, H.M.; KURAMAE, M.; RAMALHO, L.T.O. Reação à resina vegetal de mamona sem carbonato de cálcio durante o processo de reparo em defeitos ósseos induzidos no corpo da mandíbula. **Rev. Odontol. UNESP**, São Paulo, v.28, n.1, p.63-72, jan./jun. 1999.
- 108-TEIXEIRA, H.M.; VILARINHO, R.H.; RAMALHO, L.T.O. Reação à resina de mamona no processo de reparo ósseo induzido no corpo da mandíbula. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS, 13, 1996, Águas de São Pedro. **Anais...** Águas de São Pedro: SBPqO, 1996. p.189. Resumo 308.

- 109- TORNECK, C.D. Reaction of hamster tissue to drugs used in sterilization of the root canal. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.** St. Louis, v.14, n.6, p.730-747, Jun. 1961.
- 110-TORNECK, C.D. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. Part I. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.** St. Louis, v.21, n.3, p.379-387, Mar. 1966.
- 111-TRONSTAD, L.; BARNETT, F.; FLAX, M. Solubility and biocompatibility of calcium hydroxide-containing root canal sealers. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v.4, n.4, p.152-159, Aug. 1988.
- 112-TROWBRIDGE, H.O.; EMLING, R.C. **Inflamação. uma revisão do processo.** 4.ed. São Paulo: Quintessence, 1996.
- 113-VILARINHO, R.H.; HETEM, S.; RAMALHO, L.T.O. Implante de resina de poliuretano vegetal na câmara anterior do olho de camundongo. **Odonto** 2000, Araraquara, v.1, n.00, p.25-29, 1996.
- 114-WIENER, B.H.; SCHILDER, H. A comparative study of important physical properties of various root canal sealers I. Evaluation of setting times. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v.32, n.5, p.768-777, Nov. 1971.
- 115-WILLIAMS, D.F. Biocompatibility: an overview. In: WILLIAMS, D.F. **Concise encyclopaedia of medical and dental materials.** Oxford: Pergamon, 1990. p.51-59.

- 116-WILSON, A.D.; BATCHELOR, R.F. Zinc oxide-eugenol cements: II. Study of erosion and desintegration. **J. Dent. Res.**, Whashington, DC, v.49, n.3, p.593-598, May/Jun. 1970.
- 117-YESILSOY, C.; KOREN, L.Z.; MORSE, D.R.; KOBAYASHI, C. A comparative tissue toxicity evaluation of established and newer root canal sealers. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v.65, n.4, p.459-467, Apr. 1988.
- 118-YOUNIS, O.; HEMBREE, J. Leakage of different root canal sealants. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v.41, n.6, p.177-184, June 1976.
- 119-ZANONI, E.M.S.; LIA, R.C.C.; LEONARDO, M.R. Compatibilidade biológica de materiais odontológicos à base de hidróxido de cálcio. Estudo histomorfológico em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. Araraquara, 1979. Trabalho apresentado ao CNPq para obtenção de Bolsa de aperfeiçoamento.
- 120-ZMENER, O.; GUGLIEMOTTI, M.B.; CABRINI, R.L. Tissue response to an experimental calcium hydroxide-based endodontic sealer: a quantitative study in subcutaneous connective tissue of the rat. **Endod. Dent. Traumatol.**, Baltimore, v.6, n.2, p.66-72, Apr. 1990.

Anexos

Anexo 1A – As fórmulas dos cimentos, segundo os fabricantes são:

SEALAPEX[®]

(Sybron Kerr Indústria e Comércio Ltda. Guarulhos, Brasil)

Base

Óxido de cálcio.....	54,0%
Benzeno butil sulfanilamida.....	32,0%
Óxido de zinco.....	14,0%
Água destilada.....	0,01%

Catalizador

Sulfato de bário.....	54,0%
Resina de salicilato de metila.....	32,0%
Salicilato de esobitrol.....	14,0%
Sílica pulverizada.....	0,01%
Dióxido de titânio.....	1,0%
Pigmento.....	1,0%

ENDOFILL[®]

(Dentsply HERO, Indústria e Comércio Ltda, Petrópolis, RJ, Brasil)

Pó

Óxido de zinco

Resina hidrogenada

Subcarbonato de bismuto

Sulfato de bário

Borato de sódio

Líquido

Eugenol e óleo de amêndoas doces

ENDOREZ[®]

(Ultradent Products, Inc., South Jordan, Utah, USA)

Base/catalizador

Urethane dimethacrylate (UDMA).....30%

Anexo 2A

 UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA CÂMPUS DE ARARAQUARA FACULDADE DE ODONTOLOGIA	
Rua Humaitá, 1680 – CEP 14801-903 – Caixa Postal 331 Fax: (0xx16) 201-6433 – Araraquara – SP Fone: (0xx16) 201-6431 - e-mail: diretor@fodur.unesp.br / home page: http://www.fodur.unesp.br Comitê de Ética na Experimentação Animal - CEEA	
Araraquara, 12 de maio de 2003	
Ofício CEEA-FO/Ar. nº 14/2003	
Senhor(a) Pesquisador(a):	
O Comitê de Ética em Experimentação Animal-CEEA da Faculdade de Odontologia de Araraquara, reunido em 12/05/2003, após a avaliação final do Projeto de sua responsabilidade intitulado <i>"Resposta tecidual do cimento endodôntico resinoso endo-rez e um cimento experimental da resina poliuretana derivada da mamona comparada ao endofill e sealapex. Estudo histológico"</i> considerou-o APROVADO, devendo o relatório final ser apresentado em junho/2003. Atenciosamente,  Prof. Dr. JONI AUGUSTO CIRELLI Coordenador do CEEA	
Ao C.D. FÁBIO TOBIAS PERASSI DD. Pesquisador Responsável Nesta	

Anexo 3A

 ULTRADENT PRODUCTS, INC. MATERIAL SAFETY DATA SHEET			
SECTION I - IDENTIFICATION OF THE SUBSTANCE/ PREPARATION AND OF THE COMPANY/ UNDERTAKING Material Name: EndoREZ™ Base and Catalyst Material Use: Root canal sealer. Date: June 17, 1999 Prepared by: Steve Jensen, Chemist		Manufactured by: Ultradent Products, Inc. 505 West 10200 South South Jordan, Utah 84095 USA Emergency Contact: 1-800-552-5512 or 1-801-572-4200 (Outside USA) LC Representative:	
SECTION II - COMPOSITION/ INFORMATION ON INGREDIENTS			
Active ingredients:	Approximate Concentration %:	LD ₅₀ /AC ₅₀ Specify Species and Route	C.A.S. No. or U.I.C. Number
Urethane dimethacrylate (UDMA)	30%	LD ₅₀ > 5,000 mg/kg Rat - Oral	72869-86-4
SECTION III - HAZARDS IDENTIFICATION Adverse Human Effects and Symptoms: None.			
SECTION IV - FIRST AID MEASURES			
Inhalation:	N/A	Eye Contact:	Rinse for 15 minutes with lots of water. Contact physician.
Skin Contact:	Wash with soap and water.	Ingestion:	N/A
SECTION V - FIRE-FIGHTING MEASURES			
Flammability:	If Yes, Under: Yes ☐ No ☒ Which Conditions:		
Means of Extinction:	N/A	Protective Equipment for Firefighters:	N/A
SECTION VI - ACCIDENTAL RELEASE MEASURES		SECTION VII - HANDLING AND STORAGE	
Personal & Environmental Precautions:	Avoid contact with eyes and skin.		Handling Precautions:
Methods for Cleaning:	Wipe up with paper towel.		Storage Requirements:
SECTION VIII - EXPOSURE CONTROLS/ PERSONAL PROTECTION		SECTION VII - HANDLING AND STORAGE	
Respiratory Protection:	N/A	Eye Protection:	Protective eyewear.
Hand Protection:	Latex gloves.	Skin Protection:	Lab coat.
SECTION IX - PHYSICAL & CHEMICAL PROPERTIES			
Appearance:	Base: White paste. Catalyst: Beige paste.		Solubility in Water:
Odor:	Arylic odor.	pH:	N/A
SECTION X - STABILITY AND REACTIVITY		Other Data: None.	
Chemical Stability:	Conditions and Materials to Avoid:	Mixing Precautions:	Not defined.
Stability:	Mixed base and catalyst will polymerize.	Hazardous Decomposition Products:	CO ₂
SECTION XI - TOXICOLOGICAL INFORMATION			
Route of Entry:	☒ Skin Contact	☐ Oral Absorption	☒ Eye Contact
Effects and Symptoms of Short-Term Exposure:	Skin: Possible irritation (itching).		
Effects and Symptoms of Long-Term Exposure:	Skin: Slight irritation (itching).		
Sensitization:	N/A	Intensity of Product:	Slight.
SECTION XII - ECOLOGICAL INFORMATION		SECTION XIII - DISPOSAL CONSIDERATIONS	
Biodegradability:	Yes.	Method of Waste Disposal:	In accordance with governmental regulations.
Further Details:	None.		
SECTION XIV - TRANSPORT INFORMATION		SECTION XV - REGULATORY INFORMATION	
No limitations.		Not defined.	
SECTION XVI - OTHER INFORMATION			
FOR DENTAL USE ONLY. Use as directed. The information and recommendations are taken from sources (raw material MSDSs) and manufacturer's knowledge believed to be accurate; however, Ultradent Products, Inc., makes no warranty with respect to the accuracy of the information or the suitability of the recommendation and assumes no liability in any later thereof. Each user should review these recommendations in the specific context of the intended use and determine whether they are appropriate.			

PERASSI, F.T. **Resposta tecidual ao cimento endodôntico resinoso EndoREZ® e um cimento experimental derivado do polímero de mamona comparados ao Endofill® e Sealapex®. Estudo morfológico.** 2004. 117f. Tese (Doutorado em Endodontia)-Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.

Resumo

Seguindo critérios da *ISO/FDI* e *ADA/ANSI*, avaliou-se a resposta tecidual ao cimento EndoREZ®, um cimento experimental derivado do polímero de mamona (Poliquil®), Endofill® e Sealapex®. Tubos de polietileno contendo os cimentos e o grupo controle, foram implantados em duas lojas cirúrgicas preparadas no tecido subcutâneo dorsal de 26 camundongos *Mus musculus albinus* machos. Após 7 e 50 dias os animais foram mortos e removidos cirurgicamente os fragmentos teciduais, os quais foram fixados por 96 horas em solução de formol tamponado e processado através das técnicas histológicas de rotina. Seções de 6µm de espessura foram coradas com Hematoxilina e Eosina e Tricrômico de Mallory, e avaliadas com o emprego de microscópio óptico comum (Carl Zeiss – Jena). As análises mostraram, discreto ou moderado infiltrado inflamatório dos materiais testados durante os dois períodos, com exceção do cimento experimental derivado do polímero de mamona, o qual apresentou ótimo comportamento biológico mostrando seu potencial para o desenvolvimento de um novo material obturador de canais radiculares.

Palavras-chave: Endodontia, *Ricinus communis*, materiais biocompatíveis.

PERASSI, F.T. **Tissue response to root canal filling resin based EndoREZ[®] and experimental sealer of polymer extracted from castor oil compared with Endofill[®] and Sealapex[®]. Morphological study.** 2004. 117f. Tese (Doutorado em Endodontia)- Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.

Abstract

According to ISO/FDI and ADA/ANSI criteria, it was evaluated tissue responses of EndoREZ, Castor Oil Polymer Sealer, Endofill and Sealapex. Polyethylene tubes containing the cements and control group, were implanted into two surgical pockets prepared in the dorsal subcutaneous tissue of 26 rats. After 7 and 50 days, the implants were surgically removed, fixed for 96 hours in buffered formalin and processed using routine histological techniques. Sections of 6 µm were stained with Hematoxylin and Eosin and evaluated under light microscopy. Analysis revealed mild and moderate inflammatory infiltrate for all materials in both periods, exception to Castor Oil Polymer Sealer that presented better biological behavior.

Keywords: Endodontics, *Ricinus communis*, biocompatible materials.