

SIMONE WATANABE

**Avaliação da Biocompatibilidade e do Processo de
Reparo dos Cimentos Endodônticos: MTA Fillapex[®],
Endo-CPM-Sealer[®] e Sealapex[®].**

*Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Campus de Araçatuba, para
obtenção do título de DOUTOR em Ciência
Odontológica – Área de Concentração: Saúde
Bucal da Criança.*

Orientador: Prof. Adj. João Eduardo Gomes Filho

Araçatuba
2012

Catálogo na Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

- W324a Watanabe, Simone.
Avaliação da biocompatibilidade e do processo de reparo dos cimentos endodônticos : MTA Fillapex®, Endo-CPM-Sealer® e Sealapex® / Simone Watanabe. - Araçatuba : [s.n.], 2012
96 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM
- Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. João Eduardo Gomes Filho
1. Endodontia 2. Materiais biocompatíveis 3. Cimentos dentários

Black D27
CDD 617.645

DADOS CURRICULARES

SIMONE WATANABE

Nascimento	07 de outubro de 1981 Birigui/SP
Filiação	Akira Watanabe Keiko Watanabe
2001-2006	Curso de graduação em Odontologia – Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP
2007-2008	Curso de Pós-graduação em Odontopediatria, nível de Mestrado – Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP
2009-2012	Curso de Pós-graduação em Ciência Odontológica – Área de Concentração: Saúde Bucal da Criança, nível de Doutorado – Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP

DEDICATÓRIA

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho

Aos meus pais ***Akira Watanabe e Keiko Watanabe***, pelo amor, paciência e inestimável apoio. Obrigada pela ajuda incansável para que mais este sonho se tornasse realidade! Amo vocês!

Ao meu irmão ***Márcio Watanabe*** e minha cunhada ***Ana Cláudia Cristovam Watanabe***, pela amizade, apoio e parceria. Obrigada pelos momentos de alegria!

Ao meu amor ***Rafael Seiji Kubo***, pelo carinho, companheirismo e compreensão. Mesmo à distância fizeram chegar seus incentivos e carinhoso cuidado!

AGRADECIMENTOS
ESPECIAIS

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus

Pela presença constante na minha vida. Pelo auxílio nas minhas escolhas e
me confortar nas horas difíceis!

Ao Professor João Eduardo Gomes Filho

Pela orientação, competência científica e amizade. Obrigada pela
disponibilidade, apoio, correções, conselhos e generosidade reveladas ao
longo destes anos de trabalho!

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita filho” – UNESP, nas pessoas dos professores Dr^a. Ana Maria Pires Soubhia, digníssima diretora e Dr. Wilson Roberto Poi, digníssimo vice – diretor, pelo apoio. Muito Obrigada!

Aos docentes da disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem, Prof. Dr. Célio Percinoto, Prof. Dr. Julianio Pelim Pessan, Prof. Dr. Robson Frederico Cunha, Prof^a. Dr^a. Rosângela dos Santos Nery e Prof^a. Dr^a. Sandra M. H. C. Ávila de Aguiar, pelo aprendizado, companheirismo e contribuição na minha formação profissional!

A todos os docentes do programa de Pós-Graduação em Ciência Odontológica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP que lecionaram durante meu curso de Doutorado. Obrigada pelos conhecimentos compartilhados!

Aos professores da disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, Prof. Dr. Eloi Dezan Júnior, Prof. Dr. João Eduardo Gomes Filho, Prof. Dr. José Arlindo Otoboni Filho, Prof. Dr. Luciano Tavares Ângelo Cintra, Prof. Dr. Mauro Juvenal Nery, Prof. Dr.

Pedro Felício Estrada Bernabé, Prof. Dr. Roberto Holland e Prof. Dr. Valdir de Souza, pela permissão da utilização do laboratório da disciplina de Endodontia. Obrigada pelo apoio, aprendizado e amizade!

Aos meus amigos de turma, Adriana de Sales Cunha Correia, Diurianne Caroline Campos França, Marcelo Juliano Moretto e Paulo Carvalho Tobias Duarte. Obrigada pela convivência, amizade e apoio!

À amiga Isabelle Rodrigues Freire, pela amizade, carinho, paciência e apoio. Amiga de todas as horas, amiga para sempre! Obrigada!

À amiga Tatyana de Souza Pereira, pelo apoio e dedicação. Sou imensamente grata pelo incentivo e carinho!

Aos amigos Alessandra Cury Machado, Alessandra Cristina Gomes, Carolina Simonetti Lodi, Eliana Takeshita, Guilherme Rodrigues Batistella, Janaína Zavitoski Silva, Jaqueline Gallo do Amaral, Lílian Ferreira, Marcelle Danelon, Mariana Machado Teixeira de Moraes Costa e Max Douglas Faria, pela amizade e carinho. Obrigada pela troca de experiências e apoio!

Aos Prof. Dr. Luciano Tavares Ângelo Cintra e Prof. Dr. Mauro Juvenal Nery, pelo apoio e auxílio nos experimentos. Muito Obrigada!

Aos Prof. Dr. Roberto Holland e Prof. Dr. Valdir de Souza, pelo carinho e apoio. Obrigada pelos ensinamentos e incentivo!

À amiga Sueli Satomi Murata, pela amizade e carinho. Obrigada pelo apoio e grande incentivo!

Aos amigos Karoline Mafisole Volpe, Priscile Marinho, Thaís Jaqueline Vieira da Silva e Tiago Rafael Massaro, que sempre torceram e acreditaram em mim. Obrigada pela amizade e apoio!

Aos amigos da “Prótese”, Aldiéris Alves Pesqueira, Aline Satie Takamiya, Daniela Micheline Dos Santos, Douglas Roberto Monteiro e Valentim Ricardo Barão, pela amizade e carinho. Obrigada pela torcida!

Aos amigos da “Endo”, Aguinaldo Cândido da Silva Facundo, Annelise Carrara Prieto, Diego Valentim, Índia Olinta de Azevedo Queiroz e Renata Oliveira Samuel. Obrigada pela amizade e agradável convívio!

Aos demais colegas de Pós-Graduação em Ciência Odontológica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP. Obrigada!

Aos funcionários da disciplina de Endodontia, Cláudia Neves Corrêa, Grazielle Lourenço Dourado, Hermelinda de Jesus Pereira Brefore, Nelci Vieira, Neuza Angélica dos Santos e Peterson Moura, pela amizade, carinho e total apoio para realização deste trabalho. Muito Obrigada!

Aos funcionários da disciplina de Odontopediatria, Maria Bertolina Mesquita de Oliveira, Maria dos Santos Ferreira Fernandes e Mário Luís da Silva, pela amizade, apoio e torcida!

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, Ana Cláudia Martins Grieger Manzatti, Ana Paula Rímoli de Oliveira, Cláudio Hideo Matsumoto, Cláudio Maciel Júnior, Ivone Rosa de Lima Munhoz, Izamar da Silva Freitas, Luis Cláudio Sedlacek, Luzia Anderlini e Maria Cláudia de Castro Benez, pela paciência e disposição. Obrigada!

Aos funcionários da Seção de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, Cristiane Regina Lui Matos, Diogo Luís Reatto,

Lilian Sayuri Mada, Marina Midori Sakamoto Kawagoe e Valéria de Queiroz M. Zagatto. Obrigada pela atenção, paciência e apoio!

Aos funcionários do biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, Alan Roger Cenerine Carvalho, Camilo Roberto Venâncio e João Batista Alves Correa, pelo apoio e auxílio no tratamento dos animais!

À empresa Ângelus® e à empresa EGEO®, por terem cedido os materiais para serem utilizados nos experimentos. Muito Obrigada!

À FAPESP, pelo total apoio financeiro para a realização deste trabalho. Muito Obrigada!

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho!

MUITO OBRIGADA!!

RESUMO

Watanabe, S. Avaliação da biocompatibilidade e do processo de reparo dos cimentos endodônticos: MTA Fillapex[®], Endo-CPM-Sealer[®] e Sealapex[®]. [Tese]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista; 2012.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta tecidual frente ao implante de tubos de polietileno preenchidos pelos cimentos Sealapex[®], Endo-CPM-Sealer[®] e MTA Fillapex[®] em tecido subcutâneo de ratos, bem como avaliar o processo de reparo de dentes de cães com lesão periapical, obtida experimentalmente, obturados com os mesmos cimentos. Para o teste de biocompatibilidade foram utilizados 30 ratos, os quais receberam individualmente três implantes de tubos de polietileno contendo os cimentos a serem testados e mais um tubo vazio como controle. Os períodos de avaliação foram de 7, 15, 30, 60 e 90 dias. Os espécimes foram processados laboratorialmente e analisados nas colorações de Hematoxilina e Eosina, Von Kossa e sem coloração para análise sob luz polarizada. Foram atribuídos escores e os dados obtidos foram analisados pelo teste Kruskal Wallis. Todos os materiais causaram reações moderadas no tempo experimental de 7 dias. A resposta foi moderada e similar para o grupo controle no 15º dia com Sealapex[®] e Endo-CPM-Sealer[®]. O grupo MTA Fillapex[®] apresentou reações leves a partir do 15º dia. Mineralizações e granulações birrefringentes à luz polarizada foram observadas com todos os materiais. Foi possível concluir que todos os materiais testados apresentaram resultados similares, sendo considerados biocompatíveis e estimulantes de mineralização. Para a avaliação do processo de reparo de dentes de cães com lesão periapical, obtida experimentalmente, foram empregados 62 canais radiculares de 2 cães machos da raça Beagle. Os animais foram anestesiados, as polpas foram extirpadas e os canais ficaram expostos ao meio oral para o desenvolvimento de lesões periapicais. Após 6 meses os dentes foram tratados endodonticamente e foram divididos em 5 grupos experimentais, de acordo com o material obturador: Grupo I – Sealapex[®]; Grupo II – Endo-CPM-Sealer[®]; Grupo III – MTA Fillapex[®]; Grupo IV – Controle Positivo; Grupo V – Controle Negativo. Após 180 dias os animais foram sacrificados e as peças removidas, processadas laboratorialmente e analisadas na coloração de Hematoxilina e

Eosina e pelo método de Brown e Brenn. A análise estatística dos dados obtidos foi efetuada utilizando-se o teste de Kruskal Wallis. Os resultados demonstraram que todos os materiais foram semelhantes nos critérios de análise histomorfológica previamente estabelecidos ($p>0,05$) evidenciando principalmente persistência de processo inflamatório e ausência de reparo do tecido periapical completo. Pode-se concluir que o preparo biomecânico seguido da obturação com os materiais estudados não foi suficiente de proporcionar o completo reparo dos tecidos periapicais.

Palavras-chave: Endodontia; Materiais biocompatíveis; Cimentos dentários.

ABSTRACT

Watanabe, S. Evaluation of the biocompatibility and of the periapical healing of the sealers: MTA Fillapex[®], Endo-CPM-Sealer[®] and Sealapex[®]. [Tese]. Araçatuba: São Paulo State University; 2012.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the tissue response to implanted polyethylene tubes filled with Sealapex[®], Endo-CPM-Sealer[®] and MTA Fillapex[®] in rat subcutaneous tissue, and to evaluate the healing process of dogs' teeth with experimental periapical lesions filled with the same sealers. For the biocompatibility test, it were used thirty rats, which received three individual implants of polyethylene tubes containing the sealers to be tested and an empty tube as control. Evaluations periods were on 7, 15, 30, 60 and 90 days. The specimens were laboratory processed and analyzed in Hematoxylin and Eosin, Von Kossa and without staining for polarized light. Scores were assigned and data were analyzed by Kruskal Wallis test. Both materials caused mild to moderate reactions on 7 days. The response was moderate and similar to the control at the 15th day with Sealapex[®] and Endo-CPM-Sealer[®]. MTA Fillapex[®] evoked mild reactions from the 15th day on. Mineralization and granulations birefringent to the polarized light were observed with all materials. It was possible to conclude that all materials tested showed similar results and they are considered biocompatible and stimulating mineralization. For the evaluation of the healing process of dogs' teeth with periapical lesions, sixty-two roots canals of two male beagle dogs were used. The animals were anesthetized, pulpectomy were performed and the canals remained open and exposed to the oral environment to induce a periapical lesion. After 6 months the teeth were endodontically treated and divided into 5 experimental groups, according to the filling material: Group I Sealapex[®]; Group II – Endo-CPM-Sealer[®]; Group III – MTA Fillapex[®]; Group IV – positive control; Group V – negative control. After 180 days, the animals were killed, the specimens were removed and laboratorially processed and analyzed in Hematoxylin and Eosin and the Brown and Brenn technique. The data were submitted to statistical

analysis by Kruskal-Wallis tests. The results showed that all materials were similar to the criteria previously established for histomorphological analysis ($p>0.05$) showing persistence of the inflammatory process and the absence of complete periapical tissue repair. It could be concluded that the biomechanical preparation followed by root canal filling with the studied material was not enough to completely heal the periapical tissues.

Key words: Endodontics; Biocompatible materials; Sealer.

*LISTA DE
ABREVIATURAS*

LISTA DE ABREVIATURAS

Ca(OH)_2 – Hidróxido de Cálcio

MTA – Agregado de Trióxido Mineral

CaO – Óxido de Cálcio

CEEA – Comissão de Ética na Experimentação Animal

mm – Milímetro

mg – Miligrama

kg – Quilograma

cm - Centímetro

GMA – Glicol Metacrilato

μm – Micrometros

Ca^{+2} - Íon Cálcio

OH^- - Íon Hidroxila

ADA – American Dental Association

ISO – International Organization for Standardization

ml – Mililitro

NaOCl – Hipoclorito de Sódio

EDTA – Etilenodiaminotetracético

*LISTA DE FIGURAS
E TABELAS*

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Artigo 1

Figura 1 – Análise histológica de todos os grupos experimentais nos tempos pós operatório de 7, 15, 30 e 90 dias (Hematoxilina e Eosina, x100).....**45**

Figura 2 – Análise histológica de todos os grupos experimentais nos tempos pós operatório de 30 e 90 dias (Von Kossa e Luz Polarizada, x100).....**47**

Tabela 1 – Percentagem de amostras de cada grupo caracterizadas de acordo com escore de infiltrado inflamatório, calcificação, presença de necrose e espessura da cápsula fibrosa.....**48**

Artigo 2

Figura 1 – Análise radiográfica e histológica do grupo Controle Positivo (Hematoxilina e Eosina, x100 e x400; Brown e Brenn, x400).....**64**

Figura 2 – Análise radiográfica e histológica do grupo Controle Negativo (Hematoxilina e Eosina, x100 e x400; Brown e Brenn, x400).....**65**

Figura 3 – Análise radiográfica e histológica do grupo Sealapex[®] (Hematoxilina e Eosina, x100 e x400; Brown e Brenn, x400).....**66**

Figura 4 – Análise radiográfica e histológica do grupo Endo-CPM-Sealer[®] (Hematoxilina e Eosina, x100 e x400; Brown e Brenn, x400).....**67**

Figura 5 – Análise radiográfica e histológica do grupo MTA Fillapex[®] (Hematoxilina e Eosina, x100 e x400; Brown e Brenn, x400).....**68**

Tabela 1 – Distribuição dos espécimes de cada grupo de acordo com escore dos parâmetros histomorfológicos.....**69**

Tabela 2 – Distribuição dos espécimes de cada grupo de acordo com escore dos parâmetros histomorfológicos.....	70
---	-----------

SUMÁRIO

SUMÁRIO

Introdução.....	27
Proposição.....	31
Artigo 1 – Avaliação da resposta tecidual aos cimentos endodônticos Sealapex[®], Endo-CPM-Sealer[®] e MTA Fillapex[®]. Análise microscópica de implantes realizados em subcutâneos de ratos.....	33
Artigo 2 – Cimento obturador a base de MTA no processo de reparo de dentes com lesões periapicais.....	50
Conclusão.....	72
Referências.....	74
Anexo 1 – Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEAA) referente ao artigo 1.....	80
Anexo 2 – Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEAA) referente ao artigo 2.....	82
Anexo 3 – Critérios para análise histomorfológica referente ao artigo 2.....	84
Anexo 4 – Diretrizes para publicação de trabalhos no JOE.....	93
Anexo 5 – Técnicas para inclusão em Glicol Metacrilato, coloração em Hematoxilina e Eosina, Von Kossa e Luz Polarizada referente ao artigo 1.....	99

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

A terapia endodôntica, particularmente os procedimentos biomecânicos, visa à remoção de micro-organismos e seus produtos, bem como modelar o canal radicular. Na seqüência, obtura-se o sistema de canais radiculares com materiais adequados, evitando a reinfecção do espaço já limpo e preparado. Para este fim utiliza-se a guta-percha e cimentos endodônticos, os quais devem possuir propriedades físicas, químicas e biológicas aceitáveis (1).

Um cimento endodôntico ideal, dentre outros requisitos, não deve causar necrose tecidual e ser aceito pelos tecidos sem manter uma seqüela inflamatória (1). A presença e liberação de substâncias do cimento podem gerar diferentes reações quando em contato com os tecidos vivos. A reação varia em função da substância, a quantidade liberada e a taxa de reabsorção. Neste experimento foram testados três cimentos endodônticos com a finalidade de avaliar a biocompatibilidade e a reparação de lesão periapical. Vários métodos são utilizados para avaliação da biocompatibilidade e a implantação de tubos de polietileno em tecido subcutâneo de ratos foi o método adotado neste estudo, uma vez que é um dos mais adequados para determinar o efeito local do material (2-5). Para a avaliação do processo de reparo apical foi utilizado como modelo experimental o cão, que apresenta sustentação científica na literatura pertinente quanto a simulações de tratamentos endodônticos (6-13).

É grande o número de cimentos obturadores destinados ao tratamento endodôntico. Dentre esses materiais, os cimentos contendo hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2) ou óxido de cálcio, devido às excelentes propriedades biológicas, notadamente no que se refere à sua capacidade de estimular a mineralização, têm utilização justificada. Entretanto, cimentos contendo Ca(OH)_2 somente serão biologicamente ativos se os íons cálcio e hidroxila forem liberados para os tecidos, pois a difusão de íons hidroxila a partir de cimentos endodônticos eleva o pH na superfície da raiz adjacente ao tecido periapical favorecendo o reparo (2). Além disso, a reação de íons cálcio provenientes da dissociação iônica do Ca(OH)_2 com o dióxido de carbono dos tecidos forma cristais de calcita que propiciam a formação de áreas de calcificação no tecido (14,15).

O Sealapex[®] (SybronEndo, Glendora, CA) é um cimento obturador que contém óxido de cálcio que em contato com os fluídos do tecido forma $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e tem sido objeto de uma série de trabalhos experimentais que analisaram tanto suas propriedades físico-químicas quanto biológicas. Este material tem mostrado apresentar biocompatibilidade junto à polpa dentária, excelente ação bactericida por apresentar um pH elevado, boa capacidade de selamento por induzir a reparação por formação de tecido duro, baixa infiltração marginal e controle da reabsorção radicular inflamatória (9,16-26).

Contudo, foi lançado no mercado o cimento endodôntico Endo-CPM-Sealer[®] (EGEO S.R.L., Buenos Aires, Argentina), sendo uma formulação de Agregado de Trióxido Mineral (MTA), indicado para ser utilizado como cimento obturador dos sistemas de canais radiculares. O Endo-CPM-Sealer[®] após a mistura é composto por MTA segundo as informações dos fabricantes. A composição química é semelhante ao MTA, mas com adição de carbonato de cálcio que reduz o pH de 12,5 para 10,0 depois de manipulado. Dessa forma a necrose de superfície do tecido em contato com o material é restrita porque permite a ação da fosfatase alcalina (27,28) além de estimular a mineralização em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos e apresentar uma resposta inflamatória leve a partir do 15º dia pós operatório (27).

Além do Endo-CPM-Sealer[®], outro cimento obturador denominado de MTA Fillapex[®] (Ângelus, Londrina, Brasil) foi lançado no mercado. Sua composição química tem como base o cimento reparador MTA com acréscimo de substâncias que permitem obter uma consistência adequada para ser empregado em obturação de canal radicular. Esse cimento apresenta-se sob a forma de pasta-pasta e é composto por resina salicilato, resina diluente, resina natural, óxido de bismuto, sílica nanoparticulada e MTA. De acordo com os fabricantes, o MTA Fillapex[®] apresenta as seguintes propriedades físicas: tempo de trabalho de 35 minutos; capacidade de escoamento de 27,66 mm; tempo de presa de 130 minutos; densidade óptica de 77%; solubilidade de 0,1%. Além disso, é de fácil manuseio. Por ter uma composição química semelhante a do cimento reparador MTA, espera-se resposta biológica semelhante àquela observada com o MTA ProRoot[®] (Dentsply, Tulsa, OK, USA) e Ângelus MTA[®] (Ângelus, Londrina, Brasil), como biocompatibilidade, indutor de dentinogênese, cementogênese e osteogênese, hidrofílico,

radiopaco, possuir ação antimicrobiana e promover selamento marginal adequado prevenindo infiltrações (14,29-43).

Considerando que ainda não se observam trabalhos na literatura avaliando as características biológicas do MTA Fillapex[®], o objetivo deste estudo foi avaliar a resposta tecidual em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos, bem como avaliar o processo de reparo de dentes de cães com lesão periapical, após o tratamento endodôntico em sessão única utilizando-se Sealapex[®], Endo-CPM-Sealer[®] e MTA Fillapex[®] como cimentos obturadores.

PROPOSIÇÃO

PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta tecidual em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos e o processo de reparo de dentes de cães com lesão periapical, após o tratamento endodôntico em sessão única utilizando-se Sealapex[®], Endo-CPM-Sealer[®] e MTA Fillapex[®] como cimentos obturadores.

ARTIGO 1

ARTIGO 1

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA TECIDUAL AOS CIMENTOS ENDODÔNTICOS SEALAPEX[®], ENDO-CPM-SEALER[®] E MTA FILLAPEX[®]. ANÁLISE MICROSCÓPICA DE IMPLANTES REALIZADOS EM SUBCUTÂNEOS DE RATOS.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta tecidual em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos frente ao implante de tubos de polietileno preenchidos com Sealapex[®], Endo-CPM-Sealer[®] e MTA Fillapex[®]. Os materiais foram introduzidos em tubos de polietileno e implantados no tecido conjuntivo dorsal de ratos Wistar por 7, 15, 30, 60 e 90 dias. Os espécimes foram processados laboratorialmente e analisados nas colorações de Hematoxilina e Eosina, Von Kossa e sem coloração para serem analisados sob luz polarizada. Todos os materiais causaram reações moderadas no tempo experimental de 7 dias que diminuíram com o tempo. A resposta foi moderada e similar para o grupo controle no 15º dia com Sealapex[®] e Endo-CPM-Sealer[®]. O MTA Fillapex[®] apresentou reações leves a partir do 15º dia. Mineralizações e granulações birrefringentes à luz polarizada foram observadas com todos os materiais em todos os períodos experimentais. Foi possível concluir que o MTA Fillapex[®] apresentou resultados similares ao Sealapex[®] e Endo-CPM-Sealer[®], sendo considerado um material biocompatível e estimulante de mineralização.

Palavras-chave: Biocompatibilidade, tecido conjuntivo, cimentos endodônticos

Os principais objetivos do tratamento endodôntico são a limpeza adequada e modelagem dos sistemas de canais radiculares seguido pelo preenchimento do canal com guta-percha e cimento endodôntico. Idealmente, os cimentos endodônticos devem ter propriedades físicas, químicas e biológicas favoráveis, proporcionando condições para que ocorra a reparação (1). Por estarem em íntimo contato com os tecidos periapicais podem prejudicar o processo de reparação periapical, o que justifica a importância do

estudo da reação tecidual induzida por esses cimentos endodônticos antes da sua utilização clínica (2).

A presença e liberação de substâncias do cimento podem gerar diferentes reações quando em contato com os tecidos. A reação varia de acordo com a substância, a quantidade liberada e a taxa de reabsorção. O Sealapex[®] (SybronEndo, Glendora, CA) é um cimento que contém óxido de cálcio (CaO) em sua composição, o qual em contato com a água forma hidróxido de cálcio (Ca(OH)₂) (3,4). O Sealapex[®] tem mostrado induzir reação inflamatória leve quando em contato com os tecidos periapicais (2,3,5).

O Agregado de Trióxido Mineral (MTA) tem sido extensivamente estudado. Este material foi desenvolvido para ser utilizado em perfurações patológicas ou iatrogênicas da raiz, bem como selar cavidades (6,7). Estudos têm mostrado que o MTA promove reações teciduais favoráveis, caracterizada pela ausência de respostas inflamatórias severas, presença de uma cápsula fibrosa e indução de reparação pela formação de tecido mineralizado (8,9). No entanto, apesar das características favoráveis, o MTA não apresenta as propriedades físicas necessárias para ser usado como um cimento endodôntico, devido ao seu tempo de trabalho, tempo de presa e difícil manuseio (10).

O Endo-CPM-Sealer[®] (EGEO S.R.L., Buenos Aires, Argentina) é uma formulação de MTA, indicado para ser utilizado como cimento obturador do sistema de canais radiculares. O Endo-CPM-Sealer[®] tem composição similar ao MTA, mas com adição de carbonato de cálcio com a intenção de reduzir o pH depois de manipulado para 10, limitando a necrose de superfície dos tecidos adjacentes e permitindo a fosfatase alcalina (11,12).

Outro cimento obturador à base de MTA, denominado de MTA Fillapex[®] (Ângelus, Londrina, Brasil), foi recentemente introduzido no mercado. Este cimento apresenta-se sob a forma de pasta-pasta e é composto por resina salicilato, resina diluente, resina natural, óxido de bismuto, sílica nanoparticulada e MTA. De acordo com os fabricantes, o MTA Fillapex[®] apresenta as seguintes propriedades físicas: tempo de trabalho de 35 minutos; capacidade de escoamento de 27,66 mm; tempo de presa de 130 minutos; densidade óptica de 77%; solubilidade de 0,1%. Além disso, é de fácil

manuseio. No entanto, nenhum estudo foi realizado para avaliar suas características biológicas.

Assim, o objetivo deste estudo foi comparar a reação tecidual do MTA Fillapex[®], Sealapex[®] e Endo-CPM-Sealer[®] em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos, incluindo a capacidade de estimular a mineralização.

MATERIAL E MÉTODOS

Trinta ratos albinos machos (Wistar), entre 4 e 6 meses de idade, pesando entre 250 e 280g foram usados neste estudo. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura controlada e receberam ração e água ad libitum. O cuidado dos animais foi realizado de acordo com a Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba UNESP, que aprovou o projeto antes do início dos experimentos de acordo com o protocolo 2009-000519.

Cento e vinte tubos de polietileno (Abbott Labs of Brasil, São Paulo, SP, Brasil) estéreis com 1,0mm de diâmetro interno e 1,6mm de diâmetro externo e 10,0mm de comprimento foram utilizados. Noventa tubos foram preenchidos com os materiais testados. Sealapex[®] (Sybron Endo, Glendora, CA), Endo-CPM-Sealer[®] (EGEO S.R.L., Buenos Aires, Argentina) e MTA Fillapex[®] (Ângelus, Londrina, Brasil) foram preparados de acordo com as recomendações dos fabricantes e introduzidos nos tubos com uma espiral lentulo (Maillefer Dentsply, Tulsa, OK). Trinta tubos permaneceram vazios e foram usados como controle.

Após a anestesia com xilazina (10 mg/kg) e quetamina (25 mg/kg) foi feita a tricotomia da região dorsal e anti-sepsia da área com solução de iodo 5%. Em seguida foi feita uma incisão de 2 cm no sentido da cabeça para o rabo com uma lâmina de bisturi n° 15 (Franklin Lakes, NJ, USA). A pele foi divulsionada, criando 2 bolsas em cada lado da incisão, duas na porção cranial e duas na porção caudal distante 6 cm um do outro. Os tubos foram implantados nos espaços criados e a pele foi suturada com fio de seda 4/0.

Após 7, 15, 30, 60 e 90 dias do período de implantação, seis animais foram sacrificados por overdose de solução anestésica. Os tubos com os tecidos circundantes foram removidos e fixados em solução formalina 10% e

pH 7,0 (13,14). Os tubos foram cortados transversalmente com uma lâmina de bisturi. Isto foi feito no sentido de manter as superfícies em contato direto com as soluções de processamento. Os espécimes foram processados e incluídos em glicol metacrilato (GMA), cortes seriados de 3 µm foram realizados para coloração por Hematoxilina e Eosina (15). Os cortes de 10 µm foram corados de acordo com a técnica de Von Kossa, ou permaneceram sem coloração para serem analisados sob luz polarizada.

Reações do tecido em contato com o material na abertura do tubo foram avaliadas de acordo com estudos anteriores (14-17) como: 0, nenhuma ou poucas células inflamatórias e nenhuma reação; 1, menos de 25 células e reação leve; 2, entre 25-125 células e reação moderada, e 3, 125 ou mais células e reação severa. Cápsula fibrosa foi considerada fina quando a espessura foi < 150 µm e espessa quando > 150 µm. Necrose e calcificação foram registradas como presente ou ausente. O número médio de células para cada grupo foi obtido em 10 áreas separadas (x400 de ampliação) (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany). Os resultados foram analisados estatisticamente pelo teste Kruskal Wallis.

RESULTADOS

Controle (Tubos Vazios)

No 7° e 15° dias, um infiltrado celular inflamatório moderado consistindo de linfócitos e macrófagos estava presente na cápsula fibrosa (Fig. 1 A,B). A cápsula fibrosa em volta do tubo estava fina com poucas células inflamatórias crônicas a partir do 30° dia (Fig. 1 C,D). O grupo Controle não foi positivo para coloração de Von Kossa e não foram observadas estruturas birrefringentes para luz polarizada em nenhum período experimental (Fig. 2 A-D).

Sealapex®

No 7° e 15° dias, um infiltrado celular inflamatório moderado consistindo de linfócitos e macrófagos estava presente na cápsula fibrosa (Fig. 1 E,F). A intensidade da inflamação reduziu a partir do 30° dia e a cápsula fibrosa próxima ao tubo estava fina (Fig. 1 G,H). Granulações birrefringentes para luz

polarizada e Von Kossa positivo foram observadas próximas da abertura dos tubos em todos os períodos experimentais (Fig. 2 E-H).

Endo-CPM-Sealer®

No 7° e 15° dias, um infiltrado celular inflamatório moderado consistindo de linfócitos e macrófagos estava presente na cápsula fibrosa (Fig. 1 I,J). A intensidade da inflamação e a espessura da cápsula fibrosa foram reduzidas a partir do 30° dia, similar ao grupo Controle e Sealapex® (Fig. 1 K,L). Granulações birrefringentes para luz polarizada e Von Kossa positivo foram observadas em íntimo contato com o Endo-CPM-Sealer® em todos os períodos experimentais (Fig. 2 I-L).

MTA Fillapex®

No 7° dia, um infiltrado celular inflamatório moderado consistindo de linfócitos e macrófagos estava presente na cápsula fibrosa (Fig. 1 M). A intensidade da inflamação reduziu a partir do 15° dia com uma cápsula fibrosa fina próxima do tubo e quase nenhuma célula inflamatória (Fig. 1 N-P). Granulações birrefringentes para luz polarizada e Von Kossa positivo foram observadas próximas da abertura dos tubos em todos os períodos experimentais (Fig. 2 M-P).

Comparação entre os grupos

Os dados foram comparados em cada período experimental e estão presentes na Tabela 1.

7 Dias

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os escores para resposta celular inflamatória dos diferentes grupos (mediana do escore de 2) ($p>0,05$).

15 Dias

Houve diferença estatisticamente significativa entre os escores para resposta celular inflamatória do grupo MTA Fillapex® (mediana do escore de 1) ($p<0,05$) e outros grupos (mediana do escore de 2) ($p<0,05$).

30, 60 e 90 Dias

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os escores para resposta celular inflamatória dos diferentes grupos (mediana do escore de 1) ($p>0,05$).

DISCUSSÃO

Os tubos vazios neste estudo causaram poucas reações nos tecidos conjuntivos subcutâneos, similar aos resultados previamente relatados (2,14,18).

O Sealapex[®] é um material desenvolvido para ser utilizado como cimento endodôntico e foi empregado no presente estudo como uma referência devido ao grande número de trabalhos que comprovaram suas propriedades biológicas. Os resultados observados com Sealapex[®] foram similares ao Endo-CPM-Sealer[®] e grupo Controle. A resposta inflamatória crônica moderada observada inicialmente foi diminuindo com o tempo e as áreas Von Kossa positivo e estruturas birrefringentes estavam presentes em todos os períodos observados, demonstrando que este material estimulou a formação de tecido mineralizado. Estas calcificações podem se originar a partir do CaO presente no Sealapex[®], que reage com os fluídos do tecido formando Ca(OH)_2 (19). As granulações birrefringentes observadas próximas do Sealapex[®] são provavelmente cristais de calcita originados da reação de íons cálcio com o dióxido de carbono dos tecidos (19,20).

Os resultados observados com Endo-CPM-Sealer[®] foram similares ao Sealapex[®] e grupo Controle. Uma resposta inflamatória crônica moderada no 7° e 15° dias, que reduziu com o tempo, foi observada na fina cápsula fibrosa de tecido conjuntivo em volta do tubo. Áreas de Von Kossa positivo e estruturas birrefringentes sob luz polarizada foram observadas em todos os períodos experimentais.

O Endo-CPM-Sealer[®], de acordo com os fabricantes, apresenta características física, química e biológica similares, ou melhor, quando comparado ao MTA. O Endo-CPM-Sealer[®] tem composição similar ao MTA, mas com adição de carbonato de cálcio com a intenção de reduzir o pH de 12,5 para 10,0 depois de manipulado, limitando a necrose de superfície dos tecidos adjacentes e permitindo a fosfatase alcalina (11,12). No presente estudo,

realmente não foram notadas extensas áreas de necrose em íntimo contato com Endo-CPM-Sealer®. Além disso, a atividade da fosfatase alcalina pode ser indiretamente demonstrada pela formação de áreas mineralizadas uma vez que o MTA é capaz de induzir a expressão prematura e melhorada da atividade da fosfatase alcalina pela população de fibroblastos (21) que está associada com a mineralização. O Endo-CPM-Sealer® também contém cloreto de cálcio que quando adicionado ao MTA reduz o tempo de presa e melhora as características de manipulação e selamento (22-25) sem qualquer alteração na resposta tecidual (26).

Neste estudo, o MTA Fillapex® apresentou uma resposta inflamatória crônica moderada em 7 dias que reduziu num período curto de tempo (15 dias), mais rápido do que a induzida pelo Sealapex® e Endo-CPM-Sealer®. Durante todos os períodos observados, áreas de Von Kossa positivo e estruturas birrefringentes foram observadas similarmente para aqueles relatados em reações com Ângelus MTA® (11,27). Essas calcificações são provavelmente originadas do CaO presente no MTA Fillapex® assim como no MTA (19,27).

Quando em contato com a água, o CaO pode ser convertido em Ca(OH)_2 e dissociado em íons cálcio (Ca^{+2}) e íons hidroxila (OH^-). A difusão de íons hidroxila no canal radicular aumenta o pH na superfície radicular adjacente aos tecidos periapicais, podendo interferir com a atividade dos osteoclastos e promovendo a alcalinização nos tecidos adjacentes, que favorece o processo de cicatrização do tecido (27, 28). O íon cálcio participa da ativação trifosfatase de adenosina (27,29) e reage com gás carbônico do tecido formando cristais de carbonato de cálcio (birrefringentes à luz polarizada), que serve como base para calcificação e favorece a mineralização (27,29). A rica rede extracelular de fibronectina em contato com esses cristais confirma fortemente o papel de cristais de calcita e fibronectina como um passo inicial na formação de tecido duro (27,29). O cálcio é necessário também para migração e diferenciação celular (27,30). O MTA Fillapex® tem uma composição química e resposta tecidual similar ao MTA, o que justifica sua similaridade ao MTA quando utilizado em situações clínicas, mas com mais facilidade no manuseio devido à sua apresentação pasta-pasta.

Em conclusão, os resultados observados com MTA Fillapex[®] foram similares para aqueles observados com Sealapex[®] e Endo-CPM-Sealer[®] incluindo a estimulação da mineralização. Assim, o MTA Fillapex[®] é um material biocompatível. Outros estudos são necessários para melhor analisar o comportamento deste material em outras situações e confirmar os resultados do presente estudo.

REFERÊNCIAS:

1. Grossman LI. Physical properties of root canal cements. J Endod 1976;2:166-75.
2. Gomes-Filho JE, Bernabé PFE, Nery MJ, Otoboni-Filho JA, Dezan-Júnior E, Costa MMTM, Faria MD, Watanabe S, Gomes AC. Reaction of rat connective tissue to a new calcium hydroxide-based sealer. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2008;106:71-6.
3. Holland R, Souza V. Ability of a new calcium hydroxide root canal filling material to induce hard tissue formation. J Endod 1985;11:535-43.
4. Negri MR, Panzarini SR, Poi WR, Sonoda CK, Gulinelli JL, Saito CTMH. Analysis of the healing process in delayed tooth replantation after root canal filling with calcium hydroxide, Sealapex and Endofill: a microscopic study in rats. Dent Traumatol 2008;24:645-50.
5. Tagger M, Tagger E, Kfir A. Release of calcium and hydroxyl ions from set endodontic sealers containing calcium hydroxide. J Endod 1988;14:588-91.
6. Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. J Endod 1993;19:591-5.
7. Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. J Endod 1993;19:541-4.
8. Pitt Ford TR, Torabinejad M, McKendry DJ, Hong CU, Kariyawasam SP. Use of mineral trioxide aggregate for repair of furcal perforations. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1995;79:756-63.
9. Bernabe PF, Holland R, Morandi R, de Souza V, Nery MJ, Otoboni Filho JA, Dezan Júnior E, Gomes Filho JE. Comparative study of MTA and other materials in retrofilling of pulpless dogs' teeth. Braz Dent J 2005;16:149-55.
10. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. J Endod 1995;21:349-53.

11. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Bernabé PFE, Costa MTM. A mineral trioxide aggregate sealer stimulated mineralization. *J Endod* 2009;35:256-60.
12. Gomes Filho JE, Watanabe S, Gomes AC, Faria MD, Lodi CS, Oliveira SHP. Evaluation of the effects of endodontic materials on fibroblast viability and cytokine production. *J Endod* 2009;35:1577–79.
13. American National Standards Institute/Revised American National Standards Institute American Dental Association. Document No. 41. For recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. 1979. New York, NY: American National Standards Institute.
14. Federation Dentaire International Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. Federation Dentaire International Commission on Dental Materials, Equipment, and Therapeutics. (1980) Part 4.11: Subcutaneous implantation test. *Int Dental J* 1980;30:173–4.
15. Gomes Filho JE, Gomes BPFA, Zaia AA, Novaes PD, Souza Filho FJ. Glycol Methacrylate: an alternative method for embedding subcutaneous implants. *J Endod* 2001;27:266–8.
16. Yaltirik M, Ozbas H, Bilgic B, Issever H. Reactions of connective tissue to mineral trioxide aggregate and amalgam. *J Endod* 2004;30:95–9.
17. Costa CA, Teixeira HM, do Nascimento AB, Hebling J. Biocompatibility of two current adhesive resins. *J Endod* 2000;26:512–6.
18. Ozbas H, Yaltirik M, Bilgic B, Issever H. Reactions of connective tissue to compomers, composite and amalgam root-end filling materials. *Int Endod J* 2003;36:281–7.
19. Holland R, Souza V, Nery MJ, Otoboni Filho JA, Bernabé PFE, Dezan Junior E. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. *J Endod* 1999;25:161–6.
20. Holland R, Souza V, Nery MJ, Bernabé FE, Filho JA, Junior ED, Murata SS. Calcium salts deposition in rat connective tissue after the implantation of calcium hydroxide-containing sealers. *J Endod* 2002;28:173–6.

21. Bonson S, Jeansonne BG, Lallier TE. Root-end filling materials alter fibroblast differentiation. *J Dent Res* 2004;83:408-13.
22. Wiltbank KB, Schwartz SA, Schindler WG. Effect of selected accelerants on the physical properties of mineral trioxide aggregate and Portland cement. *J Endod* 2007; 33:1235-8.
23. Ber BS, Hatton JF, Stewart GP. Chemical modification of proroot mta to improve handling characteristics and decrease setting time. *J Endod* 2007;33:1231-4.
24. Bortoluzzi EA, Broon NJ, Bramante CM, Garcia RB, de Moraes IG, Bernardineli N. Sealing ability of MTA and radiopaque Portland cement with or without calcium chloride for root-end filling. *J Endod* 2006;32:897-900.
25. Bortoluzzi EA, Juárez Broon N, Antonio Hungaro Duarte M, de Oliveira Demarchi AC, Monteiro Bramante C. The use of a setting accelerator and its effect on pH and calcium ion release of mineral trioxide aggregate and white Portland cement. *J Endod* 2006;32:1194-7.
26. Bortoluzzi EA, Broon NJ, Bramante CM, Consolaro A, Garcia RB, de Moraes IG, Bernadineli N. Mineral Trioxide Aggregate with or without Calcium Chloride in Pulpotomy. *J Endod* 2008;34:172-5.
27. Gomes-Filho JE, de Faria MD, Bernabé PF, Nery MJ, Otoboni-Filho JA, Dezan-Júnior E, Costa MMTM, Cannon M. Mineral trioxide aggregate but not light-cure mineral trioxide aggregate stimulated mineralization. *J Endod* 2008;34:62–5.
28. Tronstad L, Andreasen JO, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I. pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. *J Endod* 1981;7:17–21.
29. Seux D, Couble ML, Hartmann DJ, Gauthier JP, Magloire H. Odontoblast-like cytodifferentiation of human dental pulp cells in vitro in the presence of a calcium hydroxide-containing cement. *Arch Oral Biol* 1991;36:117–28.
30. Schroder U. Effects of calcium hydroxide-containing pulp-capping agents on pulp cell migration, proliferation, and differentiation. *J Dent Res* 1985;64:541– 8.

Figura 1. (A, B) 7 e 15 dias, infiltrado celular inflamatório moderado e cápsula fibrosa espessa. (C, D) 30 e 90 dias, cápsula fibrosa fina e infiltrado celular inflamatório leve (Controle, hematoxilina-eosina; x100). (E, F) 7 e 15 dias, cápsula fibrosa espessa e infiltrado celular inflamatório moderado com presença de linfócitos e macrófagos. (G, H) 30 e 90 dias, cápsula fibrosa em volta do tubo estava fina com poucas células inflamatórias crônicas (Sealapex[®], hematoxilina-eosina; x100). (I, J) 7 e 15 dias, cápsula fibrosa espessa e infiltrado celular inflamatório moderado. (K, L) 30 e 90 dias, infiltrado celular inflamatório leve e cápsula fibrosa fina (Endo-CPM-Sealer[®], hematoxilina-eosina; x100). (M) 7 dias, cápsula fibrosa espessa e infiltrado celular inflamatório moderado. (N, O, P) 15, 30 e 90 dias, redução da cápsula fibrosa e das células inflamatórias próximas do tubo (MTA Fillapex[®], hematoxilina-eosina; x100).

Figura 1

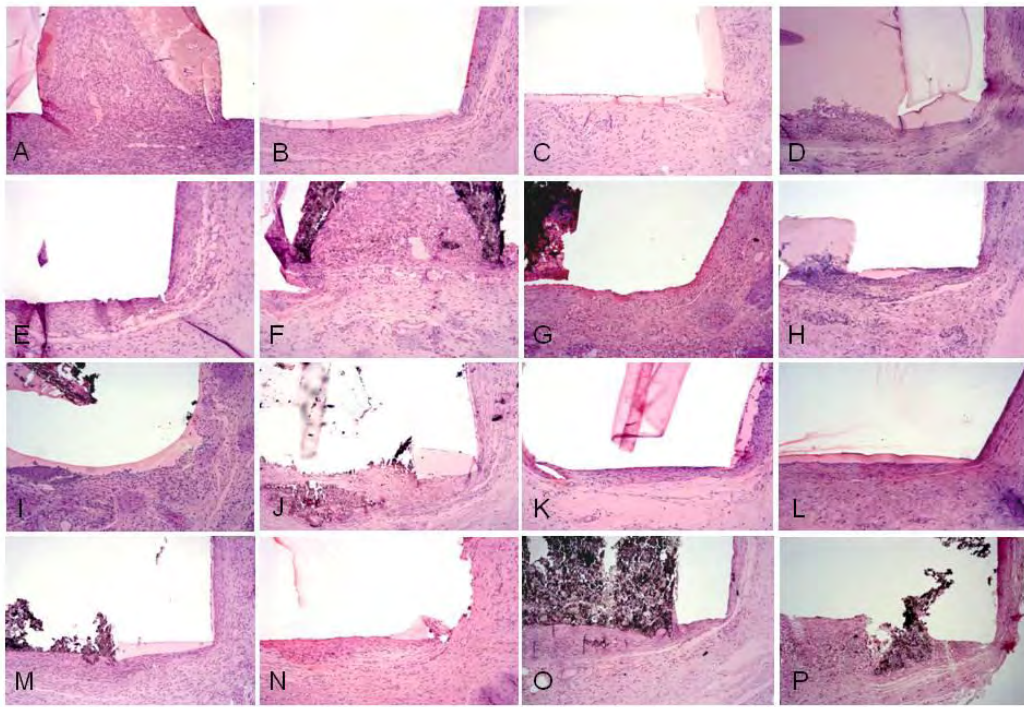


Figura 2. (A, C) 30 e 90 dias, ausência de mineralização. (B, D) 30 e 90 dias, confirmação da ausência de mineralização nos tubos vazios (Controle, Von Kossa e luz polarizada; x100). (E, G) 30 e 90 dias, presença de calcificação distrófica na abertura do tubo. (F, H) 30 e 90 dias, presença de estruturas birrefringentes para luz polarizada, confirmando a indução de mineralização (Sealapex[®], Von Kossa e luz polarizada; x100). (I, K) 30 e 90 dias, presença de calcificação distrófica. (J, L) 30 e 90 dias, estruturas birrefringentes para luz polarizada (Endo-CPM-Sealer[®], Von Kossa e luz polarizada; x100). (M, O) 30 e 90 dias, presença de calcificação distrófica na abertura do tubo. (N, P) 30 e 90 dias, presença de estruturas birrefringentes para luz polarizada (MTA Fillapex[®], Von Kossa e luz polarizada; x100).

Figura 2

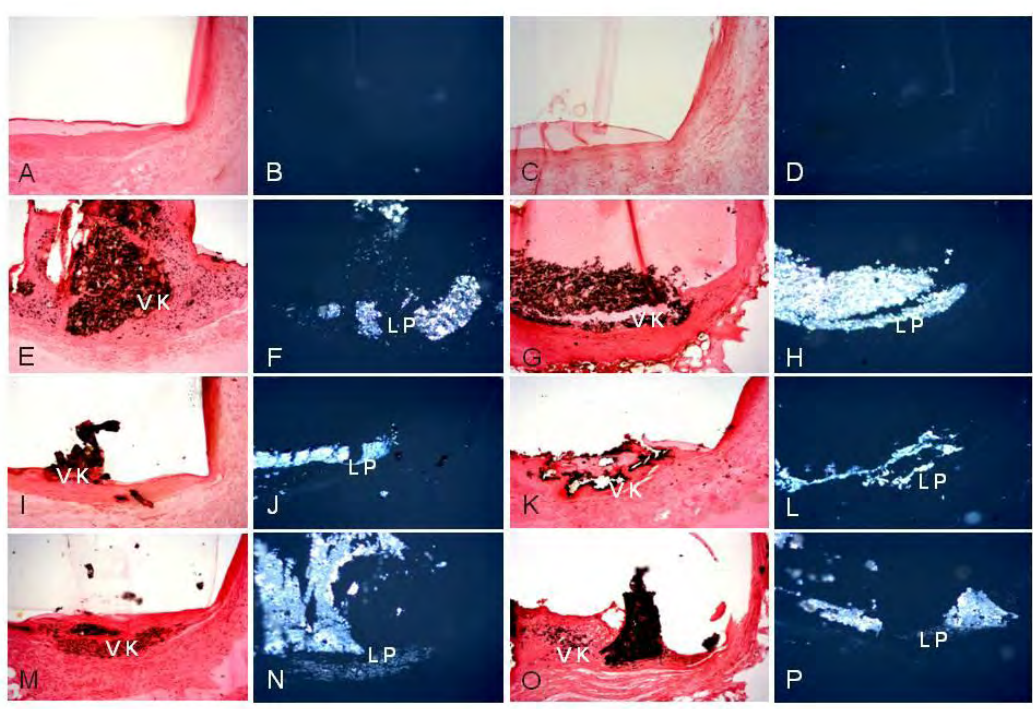


Tabela 1. Percentagem de Amostras de Cada Grupo Caracterizadas de Acordo com Escore de Infiltrado Inflamatório, Calcificação, Presença de Necrose e Espessura da Cápsula Fibrosa.

MATERIAL	ESCORE						
	0	1	2	3	calcificação	necrose	cápsula
7 dias							
Controle	0	0	100	0	0	Ausente	Espessa
Sealapex	0	0	100	0	100	Presente	Espessa
CPM Sealer	0	0	100	0	100	Presente	Espessa
Fillapex	0	0	100	0	100	Presente	Espessa
15 dias							
Controle	0	0	100	0	0	Ausente	Espessa
Sealapex	0	0	100	0	100	Presente	Espessa
CPM Sealer	0	0	100	0	100	Presente	Espessa
Fillapex	0	100	0	0	100	Presente	Fina
30 dias							
Controle	0	100	0	0	0	Ausente	Fina
Sealapex	0	100	0	0	100	Ausente	Fina
CPM Sealer	0	100	0	0	100	Ausente	Fina
Fillapex	0	100	0	0	100	Ausente	Fina
60 dias							
Controle	0	100	0	0	0	Ausente	Fina
Sealapex	0	100	0	0	100	Ausente	Fina
CPM Sealer	0	100	0	0	100	Ausente	Fina
Fillapex	0	100	0	0	100	Ausente	Fina
90 dias							
Controle	0	100	0	0	0	Ausente	Fina
Sealapex	0	100	0	0	100	Ausente	Fina
CPM Sealer	0	100	0	0	100	Ausente	Fina
Fillapex	0	100	0	0	100	Ausente	Fina

ARTIGO 2

ARTIGO 2

CIMENTO OBTURADOR A BASE DE MTA NO PROCESSO DE REPARO DE DENTES COM LESÕES PERIAPICAIS.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o processo de reparo de dentes de cães com lesão periapical, obtida experimentalmente, após o tratamento endodôntico em uma sessão com MTA Fillapex[®] comparado com Sealapex[®] e Endo-CPM-Sealer[®]. Sessenta e dois canais radiculares de 2 cães machos com 1 ano de idade foram usados. Após a extirpação pulpar, os canais foram expostos a cavidade oral por 6 meses para indução de lesão periapical. Depois desse período os canais radiculares foram preparados, irrigados com hipoclorito de sódio 2,5% e obturados com guta-percha e diferentes cimentos obturadores, de acordo com os seguintes grupos: 1) Sealapex[®]; 2) Endo-CPM-Sealer[®]; 3) MTA Fillapex[®]. Como controle positivo alguns dentes tiveram suas polpas extirpadas para indução de lesões periapicais e não receberam nenhum tratamento. Como controle negativo os dentes permaneceram hígidos. Os animais foram sacrificados após 6 meses, e cortes seriados das raízes foram preparadas para análises histomorfológicas com a técnica de coloração em hematoxilina e eosina e Brown e Brenn. Escores foram atribuídos de acordo com parâmetros histomorfológicos pré-estabelecidos e analisados estatisticamente pelo teste de Kruskal Wallis. Os resultados demonstraram que todos os materiais seguiram padrões similares de reparo ($p>0,05$) demonstrando particularmente persistência de inflamação e ausência do completo reparo do tecido periapical. Concluiu-se que o preparo biomecânico de canais radiculares infectados seguido da obturação com os materiais estudados não foi suficiente para proporcionar o completo reparo dos tecidos periapicais.

Palavras-chave: Processo de reparo, cimentos endodônticos, MTA

O Agregado de Trióxido Mineral (MTA) tem sido destacado na literatura. O MTA é um biomaterial que tem sido investigado para aplicações endodônticas desde 1990 e foi descrito pela primeira vez na literatura odontológica científica em 1993 (1). Esse material recebeu aprovação para uso endodôntico pela Food and Drug Administration EUA em 1998 (2). Estudos têm demonstrado que o MTA promove reações teciduais favoráveis, caracterizada pela ausência de respostas inflamatórias severas, presença de uma cápsula fibrosa, e indução de reparação pela formação de tecido mineralizado (3,4). O MTA é altamente biocompatível quando usado em capeamento pulpar (5), perfurações radiculares (6) e obturações retrógradas (3). Contudo, apesar das características positivas, o MTA não apresenta propriedades físicas para ser usado como cimento obturador (7).

Recentemente, com objetivo de incorporar as propriedades biológicas desejáveis do MTA em um material obturador fácil de ser manipulado e inserido, alguns fabricantes tem acrescentado componentes específicos do MTA criando cimentos obturadores. Alguns exemplos de materiais com essas características lançados no mercado são ProRoot Endo Sealer[®] (Dentsply, Tulsa, OK, USA), Endo-CPM-Sealer[®] (EGEO S.R.L., Buenos Aires, Argentina) e MTA Fillapex[®] (Ângelus, Londrina, Brasil).

De acordo com os fabricantes, o Endo-CPM-Sealer[®] apresenta composição química semelhante ao MTA, mas com a adição de carbonato de cálcio que reduz o pH de 12,5 para 10,0 depois de manipulado. Dessa forma a necrose de superfície em contato com o material é restrita, o que permite a ação da fosfatase alcalina (4,8). O Endo-CPM-Sealer[®] apresenta plasticidade satisfatória, aderência, escoamento, radiopacidade e atividade antimicrobiana (9-11). Em relação a biocompatibilidade, o Endo-CPM-Sealer[®] apresentou resultados similares ao Ângelus MTA[®], apresentando resposta inflamatória moderada em 7 e 15 dias, que reduziu com o tempo (4). Foi demonstrado também que esse material estimulou a formação de tecido mineralizado em tecido subcutâneo de ratos (4).

MTA Fillapex[®] é composto por resina salicilato, resina diluente, resina natural, óxido de bismuto, sílica nanoparticulada e MTA. De acordo com os fabricantes, o MTA Fillapex[®] apresenta as seguintes propriedades físicas: tempo de trabalho de 35 minutos; capacidade de escoamento de 27,66 mm;

tempo de presa de 130 minutos; densidade óptica de 77%; solubilidade de 0,1%. Além disso, é de fácil manuseio. Estudo em subcutâneo de ratos demonstrou que o MTA Fillapex[®] apresentou resposta inflamatória moderada em 7 dias que reduziu em curto período de tempo (15 dias), resultado similar ao Ângelus MTA[®] e melhor do que o Sealapex[®] (12). Contudo, não existe estudo avaliando o reparo periapical após o seu uso.

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o processo de reparo de dentes de cães com lesão periapical após o tratamento endodôntico em sessão única usando Sealapex[®] (SybronEndo, Glendora, CA), Endo-CPM-Sealer[®] e MTA Fillapex[®] como cimentos obturadores.

MATERIAL E MÉTODOS

Sessenta e duas raízes de 2 cães machos da raça Beagle foram utilizados neste estudo. O cuidado dos animais foi realizado de acordo com a Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEAA) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba UNESP, que aprovou o projeto antes do início dos experimentos de acordo com o protocolo 2009-002682.

Os animais foram anestesiados via intramuscular com uma combinação de xilazina (0,05 ml/Kg) (Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda, Itapira, SP, Brasil) e cloridrato de tiletamina: cloridrato de zolazepam (Zoletil-50; 0,2 ml/Kg) (Virbac do Brasil, São Paulo, SP, Brasil). Em seguida os dentes estudados foram submetidos à abertura coronária e extirpação pulpar até a barreira apical. Os canais permaneceram abertos e expostos ao meio oral por 6 meses para induzir lesão periapical. Após um controle radiográfico, os dentes com isolamento absoluto foram submetidos ao tratamento endodôntico.

Os 54 canais radiculares experimentais foram biomecanicamente preparados até a barreira apical com limas K-file #40 e abundantemente irrigados com hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2,5% durante todo processo de instrumentação. Uma sobreinstrumentação foi então realizada com limas K-file, de modo a obter um canal principal artificial abrindo o forame até o instrumento

#20. Os canais foram irrigados, secados com pontas de papel, e preenchidos com EDTA por 3 minutos. O EDTA foi removido pela irrigação com NaOCl 2,5% e uma irrigação final com soro fisiológico (13). Os canais radiculares foram obturados com pontas de guta-percha e Sealapex®, Endo-CPM-Sealer® ou MTA Fillapex® pela técnica da condensação lateral ativa 1 mm aquém do ápice. Os cimentos obturadores foram preparados de acordo com as instruções dos fabricantes. Foi realizada a limpeza das câmaras pulpares e as cavidades de acesso foram seladas com material restaurador intermediário (Coltosol – Vigodent, Rio de Janeiro, Brasil) e Resina Composta (TPH Spectrum – Dentsply, Tulsa, OK, USA). Após os procedimentos, 3 grupos experimentais com 18 raízes cada foram obtidos de acordo com o tratamento que se seguiu: Grupo I – Sealapex®; Grupo II – Endo-CPM-Sealer®; Grupo III – MTA Fillapex®.

Como Controle Positivo (Grupo IV), 4 raízes foram selecionadas para ter suas polpas extirpadas e seus canais permaneceram expostos ao meio oral sem tratamento por 6 meses (sacrifício dos animais). Como Controle Negativo (Grupo V), 4 raízes permaneceram completamente hígidas até o final do experimento.

Seis meses após o tratamento, os animais foram sacrificados através de overdose de anestésico. Maxilas e mandíbulas contendo as raízes foram removidas, fixadas em solução de formalina neutra tamponada em 10% e desmineralizadas em solução de EDTA. Segmentos maxilares, cada um contendo 1 raiz, foram preparados para análises histológicas da maneira usual. Resumidamente, os espécimes foram incluídos em parafina, seccionados seriadamente a 6 µm, e corados com hematoxilina e eosina ou pela técnica de Brown & Brenn (14).

Para análise, 12 raízes de cada material testado e 4 raízes de cada grupo controle foram selecionadas considerando-se a qualidade do processamento histológico. Os detalhes foram observados no cimento neoformado (espessura, extensão, selamento biológico dos canais principal e acessório), reabsorção do cimento, reabsorção do tecido ósseo, reação inflamatória (crônica ou aguda, número de células, e extensão da reação), ligamento periodontal (espessura e organização), limite da obturação do canal radicular, presença de detritos, células gigantes, micro-organismos, infiltrado inflamatório na região do coto pulpar e mineralização na região do coto pular.

Todos estes eventos histomorfológicos foram avaliados por escores de 1 a 4 (do melhor para o pior). Os dados foram submetidos ao teste estatístico de Kruskal Wallis.

RESULTADOS

Grupo Controle Positivo

Todos os espécimes demonstraram áreas de reabsorção do cimento apical com dimensões bem variadas. Essas áreas de reabsorção poderiam ser ativas ou inativas sem sinais de reparação (Fig. 1 B). O espaço periodontal apical foi infiltrado com intenso e extenso tecido contendo infiltrado inflamatório agudo e crônico, este último evidenciando linfócitos, plasmócitos e macrófagos (Fig. 1 C). Áreas de reabsorção do tecido ósseo com poucas áreas ativas foram observadas em todos os espécimes. A presença intensa de células gigantes foi observada em todos os espécimes. A técnica de Brown e Brenn demonstrou micro-organismos Gram-negativos em todos os espécimes no canal principal, canais acessórios apicais e lacunas do cimento (Fig. 1 D).

Grupo Controle Negativo

Houve cimento neoformado em todos os espécimes, com espessura acima de 60 µm. Não foi observado áreas de reabsorção ativa do cimento ou tecido ósseo em nenhum espécime (Fig. 2 B). Em relação ao infiltrado inflamatório, um infiltrado inflamatório leve foi observado em todos os espécimes e localizava-se dentro das ramificações ou próximo aos forames (Fig. 2 C,D). O ligamento periodontal exibiu espessura variável de até 200 µm em todos os espécimes, inserindo-se do cimento ao osso em toda porção apical. Não foi observada a presença de células gigantes ou bactérias (Fig. 2 E).

Grupo Sealapex®

Cimento neoformado eosinófilo foi observado em 9 espécimes analisados e em 8 espécimes, o cimento neoformado reparou 1/3 ou menos da área de reabsorção. Em 6 espécimes foram observados reabsorção ativa nas superfícies laterais das raízes.

Apenas 1 espécime demonstrou completo selamento do delta pelo novo cimento e 2 espécimes demonstraram completo selamento do canal principal (Fig. 3 F,G). Dez espécimes demonstraram infiltrado inflamatório crônico severo no ligamento periodontal (Fig. 3 C). No entanto, em todos os espécimes, o coto pulpar que invaginou no canal próximo ao material apresentou um infiltrado inflamatório leve e presença de tecido mineralizado em íntimo contato com o material (Fig. 3 D).

O limite de obturação do canal radicular de 9 espécimes estava além e somente 3 espécimes estava aquém do limite previsto. Em 4 espécimes foram observados reabsorção do tecido ósseo com áreas inativas, 6 espécimes com poucas áreas ativas e 2 espécimes com muitas áreas ativas. Em 8 espécimes foram observados ausência de detritos e 4 espécimes a presença discreta. A presença intensa de células gigantes foi observada em 8 espécimes, 3 espécimes foi observado a presença moderada e 1 espécime foi observado a presença discreta de células gigante.

A técnica de Brown e Brenn demonstrou micro-organismos Gram-positivos e Gram-negativos, com predominância dos Gram-negativos nas ramificações do canal principal e especialmente nas lacunas do cimento em todos os espécimes (Fig. 3 E).

Grupo Endo-CPM-Sealer®

Cimento neoformado eosinófilo foi observado em 5 espécimes analisados, mas em apenas 4 espécimes, o cimento neoformado reparou 1/3 ou menos da área de reabsorção . Em todos os espécimes foram observados áreas ativas de reabsorção do cimento.

Nenhum espécime demonstrou completo selamento do delta apical e apenas 1 espécime apresentou completo selamento do canal principal pelo cimento neoformado (Fig. 4 E). Onze espécimes demonstraram infiltrado inflamatório crônico severo (Fig. 4 D) e 1 espécime demonstrou infiltrado inflamatório moderado. O coto pulpar apresentou infiltrado inflamatório moderado em todos os espécimes e presença de tecido mineralizado em íntimo contato com o material na maioria dos espécimes (Fig. 4 F).

O limite de obturação de 9 espécimes estava além e somente 3 espécimes estava localizado aquém do limite previsto. Reabsorção do tecido

ósseo com poucas áreas ativas foi observada em 10 espécimes e em 2 espécimes foram observados muitas áreas ativas. Somente 1 espécime foi observado a presença de detritos. Em todos os espécimes, foi observada a presença intensa de células gigante.

A técnica de Brown e Brenn demonstrou micro-organismos Gram-negativos nas ramificações do canal principal e especialmente nas lacunas do cimento em todos os espécimes (Fig. 4 C).

Grupo MTA Fillapex®

Cimento neoformado eosinófilo foi observado em 9 espécimes analisados e em 9 espécimes, o cimento neoformado reparou 1/3 ou menos da área de reabsorção. Em 7 espécimes foram observados áreas de reabsorção ativas no cimento.

Nove espécimes demonstraram selamento do delta apical em poucas ramificações e apenas 1 espécime demonstrou completo selamento do canal principal (Fig. 5 F,G). Dois espécimes demonstraram infiltrado inflamatório moderado e 10 espécimes severo (Fig. 5 C). O coto pulpar apresentou infiltrado inflamatório leve em todos os espécimes e presença de tecido mineralizado em íntimo contato com o material (Fig. 5 D).

O limite de obturação do canal radicular em 11 espécimes estava além do limite apical previsto e somente 1 espécime estava aquém. Somente 1 espécime foi observado reabsorção do tecido ósseo com muitas áreas ativas, 9 espécimes com poucas áreas ativas e 2 espécimes com áreas inativas de reabsorção. Em 7 espécimes foram observados ausência de detritos e 5 espécimes a presença discreta (Fig. 5 B,D). A presença intensa de células gigantes foi observada em 10 espécimes.

A técnica de Brown e Brenn demonstrou micro-organismos Gram-negativos e Gram-positivos nas ramificações do canal principal e especialmente nas lacunas do cimento em todos os espécimes (Fig. 5 E).

Comparação entre os grupos

Os escores atribuídos aos diferentes eventos histomorfológicos foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis. Esse teste classificou os grupos experimentais do melhor para o pior da seguinte maneira: (a) Sealapex®; (b)

MTA Fillapex[®]; (c) Endo-CPM-Sealer[®]. Em relação aos escores, não houve diferença estatisticamente significativa entre os diferentes grupos ($p>0,05$) (Tabela 1 e 2), evidenciando principalmente a ausência de reparo tecidual periapical. No entanto, o coto pulpar exibiu reação inflamatória leve nos grupos do Sealapex[®] e MTA Fillapex[®] demonstrando que esses materiais são biocompatíveis.

DISCUSSÃO

O modelo experimental de indução de lesões usado neste estudo foi baseado em critérios previamente estabelecidos (15). Através desta metodologia, a resposta da terapia endodôntica sem o uso de curativo intracanal foi avaliada para que não houvesse acréscimo de variáveis na análise dos cimentos endodônticos e não como uma alternativa para o tratamento.

Neste estudo, os resultados obtidos não foram satisfatórios em relação ao processo de reparo em dentes de cães com lesão periapical independentemente do cimento utilizado. MTA Fillapex[®] demonstrou resultados similares ao Sealapex[®] e Endo-CPM-Sealer[®] em relação aos diferentes critérios histopatológicos investigados. Os resultados são devido a similaridade no mecanismo de ação biológica dos cimentos obturadores uma vez que a presença de óxido de cálcio em sua composição que podem reagir com água ou fluidos do tecido formando hidróxido de cálcio e então se dissociam em íons cálcio e hidroxila atuando sobre a alcalinização de tecido para formar cristais de calcita (4,16). No entanto, como vantagem, MTA Fillapex[®] e Sealapex[®] apresentaram menor reação inflamatória na região do coto pulpar em íntimo contacto com os materiais obturadores.

Vários fatores podem influenciar os resultados do tratamento endodôntico de dentes com lesão periapical, dentre eles o preparo biomecânico (instrumentação e irrigação), curativo intracanal e obturação. Os instrumentos penetram em quase todo canal radicular principal, mas não atingem as suas ramificações e as lacunas de cimento onde os micro-organismos podem estar alojados causando periodontite apical (15,17,18).

O uso de soluções irrigadoras tem como objetivo reduzir o número de micro-organismos, remover detritos e neutralizar compostos orgânicos, mas pelo risco de extravasamento pelo forame apical, devem ser biocompatíveis e não-irritantes aos tecidos periapicais (19,20). Em altas concentrações, o NaOCl tem potente ação antimicrobiana devido à liberação de cloratos secundários, levando à dissolução tecidual, sendo assim recomendado para o tratamento de dentes com lesões periapicais (21).

Vários estudos *in vitro* têm demonstrado atividade antimicrobiana do NaOCl a 2,5% contra *Enterococcus faecalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus sobrinus* sendo eficaz na desinfecção do canal radicular (22-24). Além disso, foi demonstrado ausência de diferença na atividade antimicrobiana de NaOCl 1%, 2,5% e 5% (24). Embora o NaOCl 2,5% tenha sido utilizado no presente estudo, foi observada a persistência de bactérias na maioria dos espécimes de todos os grupos experimentais avaliados.

Os resultados do presente estudo demonstraram que os materiais obturadores empregados não foram efetivos no combate a infecção endodôntica uma vez que houve ausência de reparo completo do tecido periapical. Evidenciou-se que, embora os cimentos endodônticos tenham atividade antimicrobiana (25-27), ela não é suficiente para ajudar no combate da infecção intracanal principalmente após a presa (28). Além disso, os resultados obtidos foram similares aos resultados de estudos previamente relatados, que mostraram que dentes tratados em sessão única não mostraram reparação adequada quando se comparados aos dentes tratados utilizando a pasta de hidróxido de cálcio como curativo intracanal (15,29). Aliado a este fato, a complexidade do sistema de canais radiculares formado pelos canais principais, acessórios e ramificações apicais (30,31) constitui um fator importante a ser considerado na estratégia de desinfecção ajudando na justificativa do uso do curativo intracanal (15,32).

Por outro lado, observou-se reação inflamatória leve e presença de tecido mineralizado na região do coto pulpar com os grupos do MTA Fillapex® e Sealapex® demonstrando que esses materiais são biocompatíveis, o que está de acordo com estudos anteriores (4,12,33,34). Assim, fica evidente que

mesmo utilizando-se de materiais biocompatíveis que estimulam a mineralização dos tecidos, a desinfecção do sistema de canais radiculares deve ser alcançada com o preparo biomecânico adequado e potencializada com o curativo intracanal e não ser creditada ao cimento obturador.

Pode-se concluir que o tratamento endodôntico realizado em sessão única usando os materiais estudados não foi capaz de proporcionar o completo reparo dos tecidos periapicais de dentes de cães.

REFERÊNCIAS

1. Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. J Endod 1993;19:541–4.
2. Schmitt D, Bogen G. Multifaceted use of ProRoot MTA root canal repair material. Pediatr Dent 2001;23:326–30.
3. Bernabe PF, Holland R, Morandi R, Souza V, Nery MJ, Otoboni Filho JA, Dezan Júnior E, Gomes Filho JE. Comparative study of MTA and other materials in retrofilling of pulpless dogs' teeth. Braz Dent J 2005;16:149 – 55.
4. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Bernabé PFE, Costa MTM. A Mineral Trioxide aggregate sealer stimulated mineralization. J Endod 2009;35:256-60.
5. Holland R, Souza V, Murata SS, Nery MJ, Bernabe PF, Otoboni-Filho JA, Dezan Júnior E. Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and pulp covering with mineral trioxide aggregate or Portland cement. Braz Dent J 2001;12:109-13.
6. Miranda RB, Fidel SR, Boller MA. L929 cell response to root perforation repair cements: an *in vitro* cytotoxicity assay. Braz Dent J 2009;20:22-6.
7. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. J Endod 1995;21:349 –53.
8. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Gomes AC, Faria MD, Lodi CS, Oliveira SHP. Evaluation of the Effects of Endodontic Materials on Fibroblast Viability and Cytokine Production. J Endod 2009;35:1577–79.
9. Tanomaru-Filho M, Faleiros FBC, Saçaki JN, Duarte MAH, Tanomaru JMG. Evaluation of pH and Calcium Ion Release of Root-end Filling Materials Containing Calcium Hydroxide or Mineral Trioxide Aggregate. J Endod 2009;35:1418–21.
10. Tanomaru JMG, Duarte MAH, Gonçalves M, Tanomaru-Filho M. Radiopacity evaluation of root canal sealers containing calcium hydroxide and MTA. Braz Oral Res 2009;23:119-23.

11. Tanomaru JMG, Tanomaru-Filho M, Hotta J, Watanabe E, Ito IY. Antimicrobial activity of endodontic sealers based on calcium hydroxide and MTA. *Acta Odontol Latinoam* 2008;21:147-51.
12. Gomes Filho JE, Watanabe S, Lodi CS, Cintra LT, Nery MJ, Filho JA, Dezan E Jr, Bernabé PF. Rat tissue reaction to MTA Fillapex®. *Dent Traumatol* 2011; dec 8 [Epub ahead of print].
13. Holland R, Souza V, Otoboni-Filho JA, Nery MJ, Bernabé PFE, Mello W. Técnicas mistas de preparo do canal radicular. *Rev Paul Odontol* 1991;13:17-23.
14. Bohorques-Avila SP. Avaliação da presença e localização de bactérias nos canais radiculares e nas lesões periapicais crônicas pelo método de coloração de Brown e Brenn e da Prevootella intermédia pela imunofluorescência indireta. Bauru 125p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo 1994.
15. Holland R, Otoboni-Filho JA, Souza V, Nery MJ, Bernabe PFE, Dezan-Jr E. A Comparison of One Versus Two Appointment Endodontic Therapy in Dogs' Teeth with Apical Periodontitis. *J Endod* 2003;29:121-24.
16. Holland R, Souza V, Nery MJ, Otoboni-Filho JA, Bernabé PFE, Dezan-Júnior E. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. *J Endod* 1999;25:161-6.
17. Leonardo MR, Almeida WA, Silva LAB, Utrilla LS. Histopathological observations of periapical repair in teeth with radiolucent areas submitted to two different methods of root canal treatment. *J Endod* 1995;21:137–41.
18. Sjögren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 1997;30:297–306.
19. Ferraz CC, Gomes NV, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Apical extrusion of debris and irrigants using two hand and three engine-driven instrumentation techniques. *Int Endod J* 2001;34:354-58.
20. Lambrianidis T, Tosounidou E, Tzoanopoulou M. The effect of maintaining apical patency on periapical extrusion. *J Endod* 2001;27:696-98.

21. Ayhan H, Sultan N, Cirak M, Ruhi MZ, Bodur H. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. *Int Endod J* 1999;32:99–102.
22. Siqueira JF Jr, Machado AG, Silveira RM, Lopes HP, de Uzeda M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal, in vitro. *Int Endod J* 1997;30:279-82.
23. Siqueira JF Jr, Batista MM, Fraga RC, Lima KC. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. *J Endod* 1998;24: 414-16.
24. Siqueira JF Jr, Rocas IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod* 2000;26:331-34.
25. Estrela C, Bammann LL, Estrela CR, Silva RS, Pécora JD. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. *Braz Dent J*. 2000;11:3-9.
26. Cobankara FK, Altinöz HC, Ergani O, Kav K, Belli S. In vitro antibacterial activities of root-canal sealers by using two different methods. *J Endod* 2004 30;1:57-60.
27. Siqueira JF Jr, Favieri A, Gahyva SM, Moraes SR, Lima KC, Lopes HP. Antimicrobial activity and flow rate of newer and established root canal sealers. *J Endod* 2000;26:274-7.
28. Morgental RD, Vier-Pelisser FV, Oliveira SD, Antunes FC, Cogo DM, Kopper PMP. Antibacterial activity of two MTA-based root canal sealers. *Int Endod J* 2011;44:1128–33.
29. Silveira AM, Lopes HP, Siqueira JF, Macedo-Júnior SB, Consolaro A. Periradicular Repair after two-visit endodontic treatment using two different intracanal medications compared to single-visit endodontic treatment. *Braz Dent J* 2007;18:299-304.
30. Hess W. Formation of root canal in human teeth. *J Natl Dent Assoc* 1921;3:704-34.
31. Perrini N, Castagnola L. W Hess & O Keller's anatomical plates: studies on the anatomical structure of root canals in human dentition by a method

of making the tooth substance transparent (1928). Lainate (MI), Italy: Altini Comunicazioni Grafiche;1998.

32. Nair PN, Henry S, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005;99:231-52.
33. Gomes-Filho JE, Bernabé PFE, Nery MJ, Otoboni-Filho JA, Dezan-Júnior E, Costa MMTM, Faria MD, Watanabe S, Gomes AC. Reaction of rat connective tissue to a new calcium hydroxide-based sealer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;106:71–6.
34. Holland R, Souza V. Ability of a new calcium hydroxide root canal filling material to induce hard tissue formation. *J Endod* 1985;11:535–43.

GRUPO I – Controle Positivo

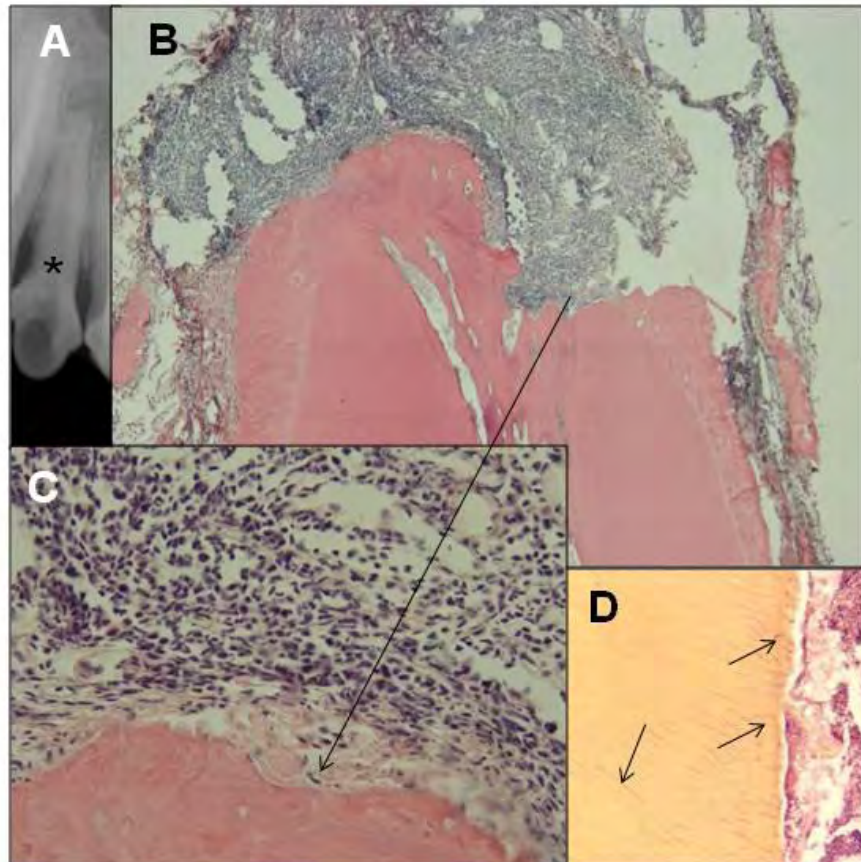


Fig. 1 - Imagens representativas do grupo controle positivo. **(A)** Radiografia do incisivo intermediário superior direito (*), 180 dias após pulpectomia [Original - Rx]. **(B)** Aspecto panorâmico [x100 - H.E.]. **(C)** Infiltrado inflamatório severo e intensas áreas de reabsorção (*seta*) [x400 - H.E.]. **(D)** Bactérias Gram negativas contidas em túbulos dentinários (*setas*) [x400 - B.B.].

GRUPO II – Controle Negativo

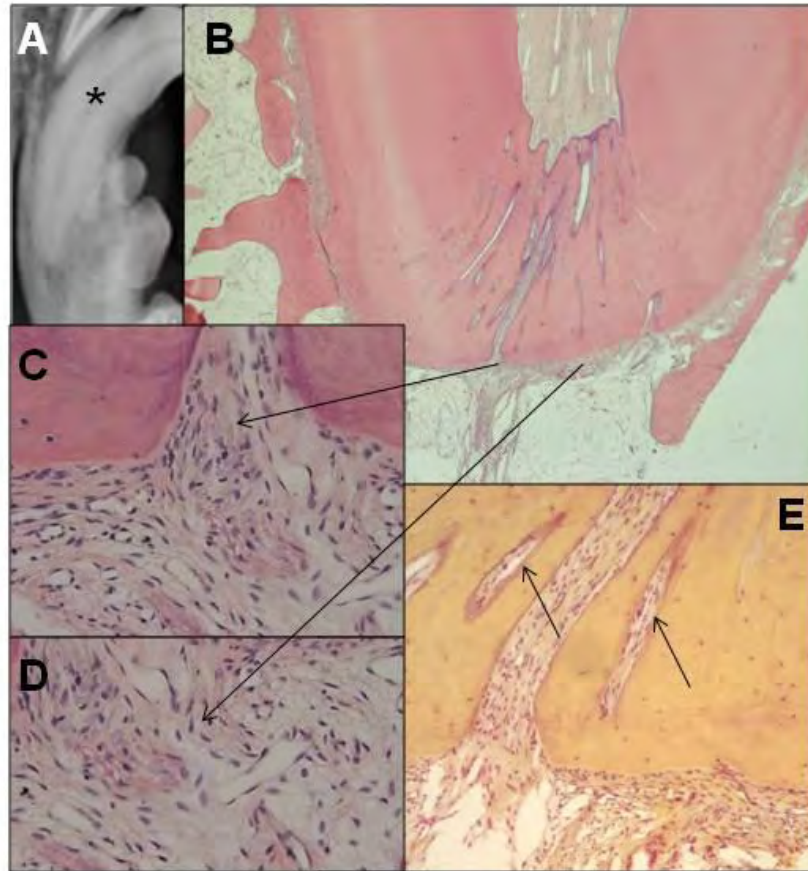


Fig. 2 - Imagens representativas do grupo controle negativo. **(A)** Radiografia do canino inferior esquerdo (*), hígido [Original - Rx]. **(B)** Aspecto panorâmico [x100 - H.E.]. **(C,D)** Infiltrado inflamatório leve e organização do tecido (*setas*) [x400 - H.E.]. **(E)** Ausência de bactérias em lacunas de cimento (*setas*) [x400 - B.B.].

GRUPO III - Sealapex®

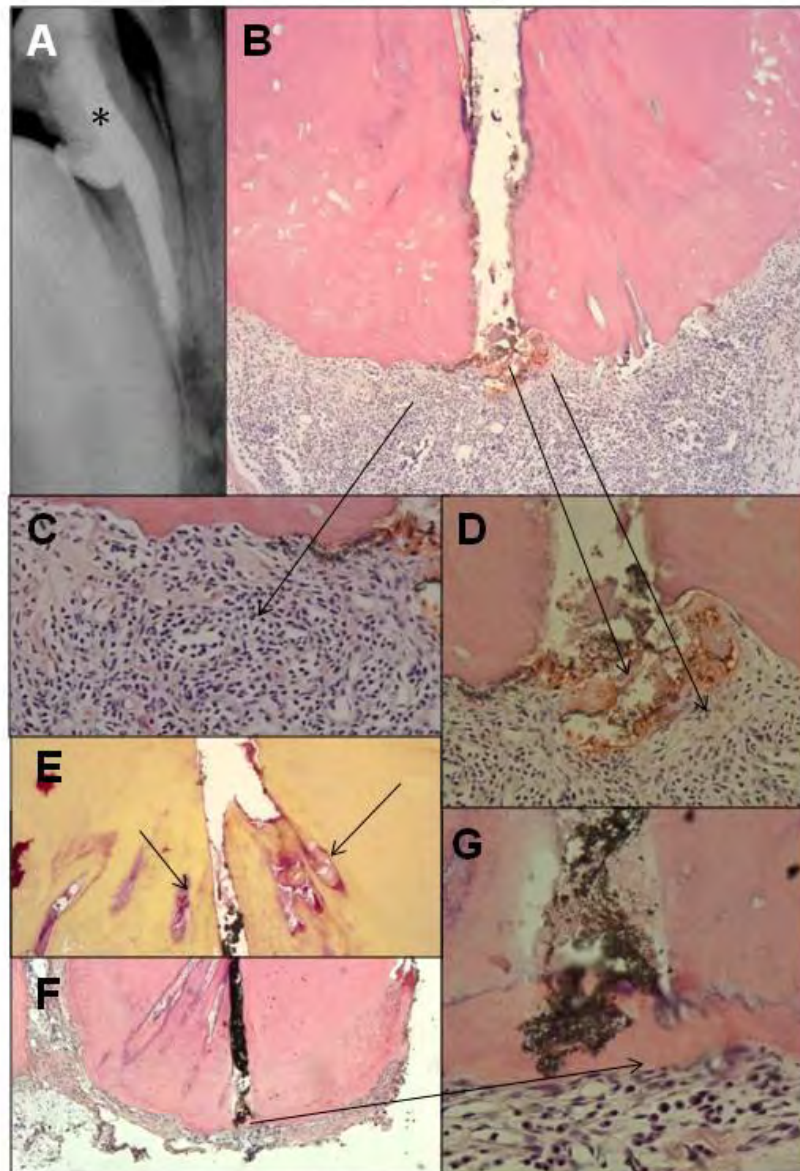


Fig. 3 - Imagens representativas do grupo tratado com Sealapex®. **(A)** Radiografia do incisivo lateral inferior direito (*), 180 dias após a obturação [Original - Rx]. **(B)** Aspecto panorâmico e ausência de selamento completo no canal principal [x100 - H.E.]. **(C)** Infiltrado inflamatório severo (*sefa*) [x400 - H.E.]. **(D)** Coto pulpar apresentando infiltrado inflamatório leve e presença de mineralização (*sefas*) [x400 - H.E.]. **(E)** Bactérias Gram negativas em lacunas de cimento (*sefas*) [x400 - B.B.]. **(F)** Aspecto panorâmico do incisivo lateral inferior direito [x100 - H.E.]. **(G)** Cimento neoformado na região do canal principal (*sefa*) [x400 - HE].

GRUPO IV – Endo-CPM-Sealer®

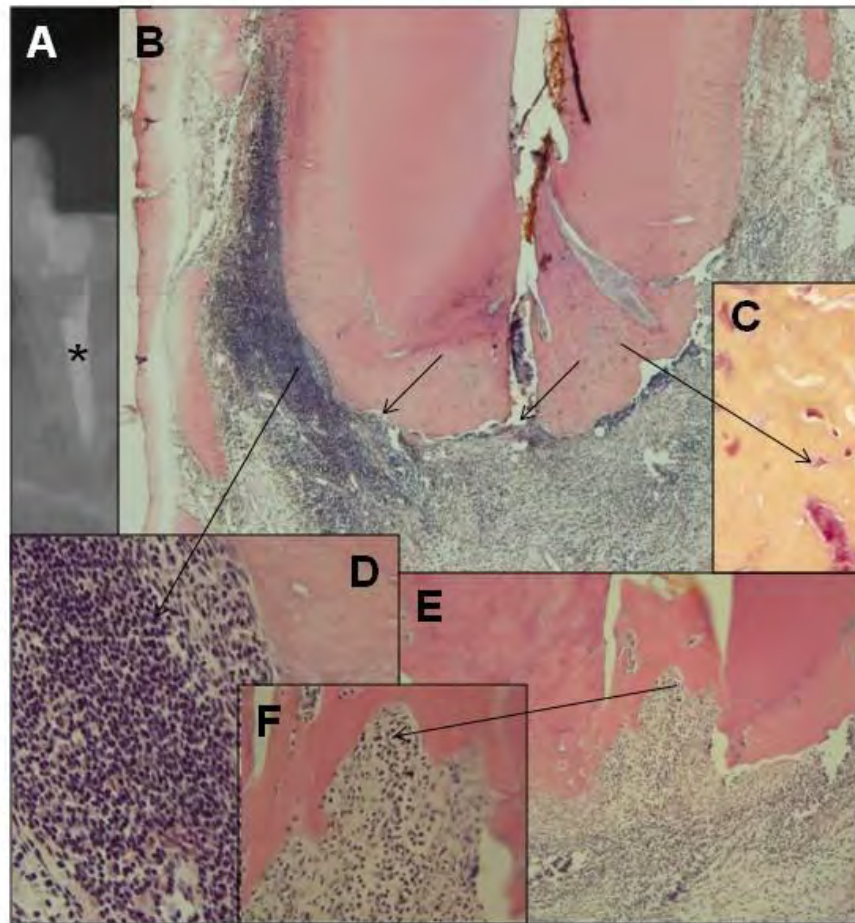


Fig. 4 - Imagens representativas do grupo tratado com Endo-CPM-Sealer®. **(A)** Radiografia do 4º pré-molar inferior esquerdo (*- raiz distal), 180 dias após a obturação [Original - Rx]. **(B)** Aspecto panorâmico, áreas de reabsorção e ausência de cemento neoformado (*sefas*) [x100 - H.E.]. **(C)** Bactérias Gram negativas em lacunas de cimento (*sefas*) [x400 - B.B.]. **(D)** Infiltrado inflamatório severo (*seta*) [x400 - H.E.]. **(E)** Aspecto panorâmico do 4º pré-molar inferior esquerdo (raiz mesial) [x100 - H.E.]. **(F)** Coto pulpar apresentando infiltrado inflamatório moderado e presença de mineralização (*seta*) [x400 - H.E.].

GRUPO V – MTA Fillapex®

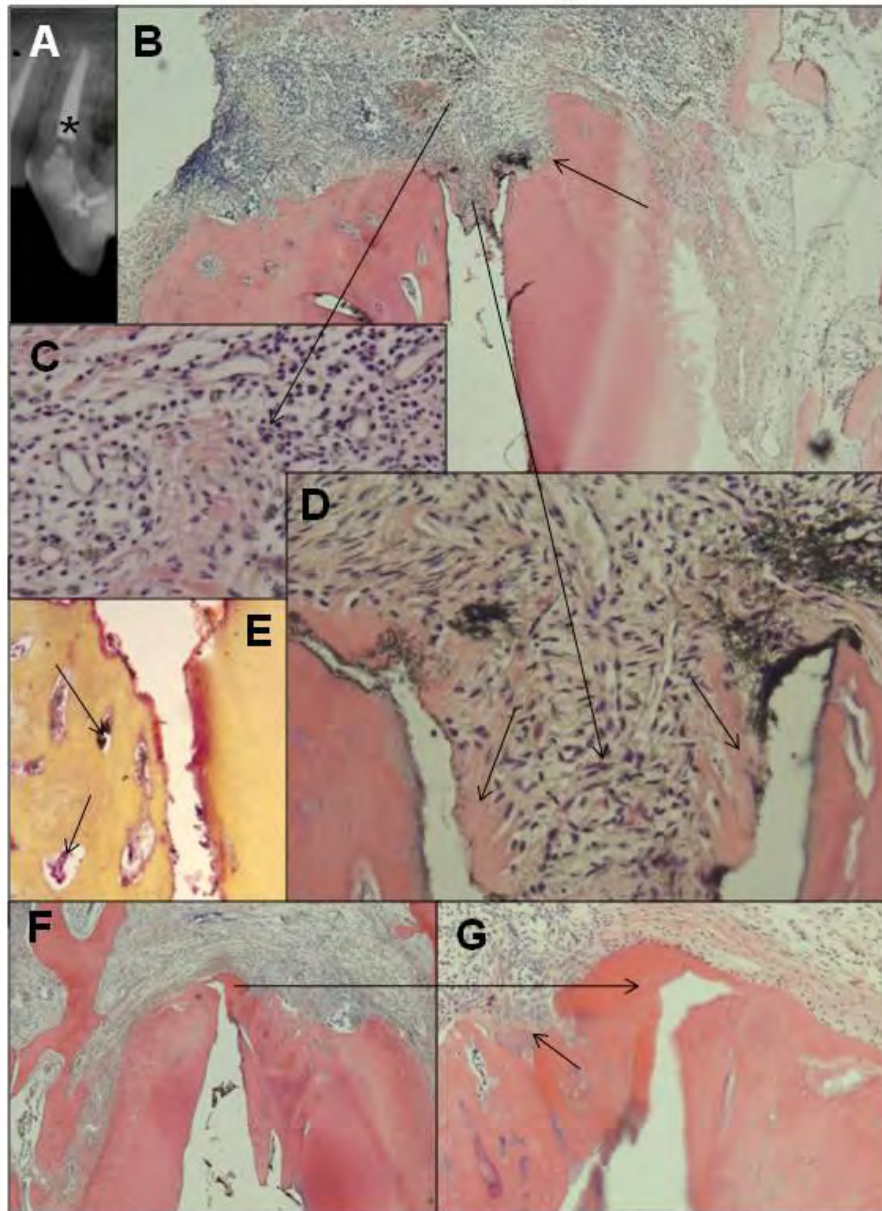


Fig. 5 - Imagens representativas do grupo tratado com MTA Fillapex®. (A) Radiografia do 3º pré-molar superior esquerdo (*- raiz mesial), 180 dias após obturação [Original - Rx]. (B) Aspecto panorâmico, áreas de reabsorção e ausência de cimento neoformado (*seta*) [x100 - H.E.]. (C) Infiltrado inflamatório severo (*seta*) [x400 - H.E.]. (D) Coto pulpar apresentando infiltrado inflamatório leve e presença de mineralização (*setas*) [x400 - H.E.]. (E) Bactérias Gram positivas e Gram negativas em lacunas de cimento (*setas*) [x400 - B.B.]. (F) Apecto panorâmico do 3º pré-molar superior esquerdo (raiz distal) [x100 - H.E.]. (G) Cimento neoformado na região do canal principal, áreas de reabsorção não reparadas (*setas*) [x400 - HE].

Tabela 1. Distribuição dos espécimes de cada grupo de acordo com escore dos parâmetros histomorfológicos.

Parâmetros histomorfológicos	Escore	Grupos				
		G I (n=12)	G II (n=12)	G III (n=12)	G IV (n=4)	G V (n=4)
Espessura do novo cimento formado:	1 - acima de 60 μ m	9	5	9	0	4
	2 - entre 20 a 59 μ m	0	0	0	0	0
	3 - entre 1 a 19 μ m	0	0	0	0	0
	4 - ausência	3	7	3	4	0
Extensão do novo cimento formado	1 - repara todas as áreas de reabsorção ou recobre áreas pré-existent	0	0	0	0	4
	2 - repara 1/2 a 2/3 das áreas de reabsorção	1	0	0	0	0
	3 - repara 1/3 ou menos das áreas de reabsorção	8	4	9	0	0
	4 - ausência de cimento reparando áreas de reabsorção	3	8	3	4	0
Selamento dos canais do delta apical	1 - completo	1	0	0	0	4
	2 - completo na maioria das ramificações	0	0	0	0	0
	3 - completo em poucas ramificações	7	4	9	0	0
	4 - ausência	4	8	3	4	0
Selamento do canal principal	1 - completo	2	1	1	0	4
	2 - selamento parcial	1	0	0	0	0
	3 - deposição de cimento nas paredes laterais	0	2	2	0	0
	4 - ausência	9	9	9	4	0
Áreas de reabsorção do cimento:	1 - ausência	0	0	0	0	4
	2 - áreas reparadas parcialmente	1	0	1	0	0
	3 - áreas não reparadas	5	0	4	0	0
	4 - áreas de reabsorção ativas	6	12	7	4	0
Infiltrado inflamatório (intensidade):	1 - ausente ou n° desprezível	0	0	0	0	0
	2 - leve: n° de células inferior a 10	1	0	0	0	4
	3 - moderado: n° de células entre 10 e 25	1	1	2	0	0
	4 - severo: n° de células superior a 25	10	11	10	4	0
Infiltrado inflamatório (extensão):	1 - ausente	0	0	0	0	0
	2- dentro das ramificações ou junto aos forames	0	0	0	0	4
	3 - pouco além dos forames	1	0	0	0	0
	4 - invadem todo espaço periodontal apical	11	12	12	4	0

Tabela 2. Distribuição dos espécimes de cada grupo de acordo com escore dos parâmetros histomorfológicos.

Parâmetros	Escore	Grupos				
		G I (n=12)	G II (n=12)	G III (n=12)	G IV (n=4)	G V (n=4)
histomorfológicos						
Tecido ósseo (reabsorção):	1 - ausente	0	0	0	0	0
	2 - áreas inativas	4	0	2	0	4
	3 - poucas áreas ativas	6	10	9	4	0
	4 - muitas áreas ativas	2	2	1	0	0
Ligamento periodontal (espessura):	1 - até 200 µm	12	12	12	4	4
	2 - entre 201 a 300 µm	0	0	0	0	0
	3 - entre 301 a 400 µm	0	0	0	0	0
	4 - acima de 401 µm	0	0	0	0	0
Ligamento periodontal (organização):	1 - inserem-se do cimento ao osso em toda porção apical	0	0	0	0	4
	2 - inserem-se do cimento ao osso em parte da porção apical	0	0	0	0	0
	3 - correm paralelamente à superfície do dente	7	3	7	0	0
	4 - ausência de organização	5	9	5	4	0
Limite da obturação:	1 - aquém (limite previsto)	3	3	1	-	-
	2 - além do limite previsto	9	9	11	-	-
	3 - pouco além do forame	0	0	0	-	-
	4 - muito além do forame	0	0	0	-	-
Detritos:	1 - ausência	8	11	7	-	-
	2 - presença discreta	4	1	5	-	-
	3 - presença moderada	0	0	0	-	-
	4 - presença intensa	0	0	0	-	-
Presença de células gigantes:	1 - ausência	0	0	0	0	4
	2 - discreta: 1 a 3 células	1	0	0	0	0
	3 - moderada: 4 a 6 células	3	0	2	0	0
	4 - intensa: 7 ou mais células	8	12	10	4	0
Presença de micro-organismos:	1 - ausência	0	0	0	0	4
	4 - presença	12	12	12	4	0
Infiltrado inflamatório (Coto Pulpar):	1 - ausente ou n° desprezível	0	0	0	0	4
	2 - leve: n° de células inferior a 10	12	0	12	0	0
	3 - moderado: n° de células entre 10 e 25	0	12	0	0	0
	4 - severo: n° de células superior a 25	0	0	0	4	0
Presença de mineralização (Coto Pulpar):	1 - presença	12	8	12	0	0
	4 - ausência	0	4	0	4	4

CONCLUSÃO

CONCLUSÃO

Concluiu-se com base nas metodologias empregadas que:

1. A resposta do tecido subcutâneo de ratos aos três materiais testados foi semelhante, sendo considerados biocompatíveis e estimulantes de mineralização.
2. Pode-se concluir que o tratamento endodôntico utilizando MTA Fillapex[®], Sealapex[®] ou Endo-CPM-Sealer[®] realizado em sessão única não foi capaz de proporcionar o completo reparo dos tecidos periapicais de dentes de cães.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

1. Grossman LI. Physical properties of root canal cements. J Endod 1976;2:166-75.
2. Gomes-Filho JE, Bernabé PFE, Nery MJ, Otoboni-Filho JA, Dezan-Júnior E, Costa MMTM, Faria MD, Watanabe S, Gomes AC. Reaction of rat connective tissue to a new calcium hydroxide-based sealer. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2008;106:71-6.
3. Guttuso J. Histopathologic study of rat connective tissue responses to endodontic materials. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1963;16:713-27.
4. Olsson B, Sliwkowski A, Langeland K. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. J Endod 1981;7:355-67.
5. Orstavik D, Mjor IA. Histopathology and X-ray microanalysis of the subcutaneous tissue response to endodontic sealers. J Endod 1988;14:13-23.
6. Holland R, de Mello W, de Souza V, Nery MJ, Bernabe PF, Otoboni Filho JA. Reaction of the pulp and periapical tissue of dog teeth with incompletely formed foramina, following pulpotomy and protection with calcium hydroxide or formocresol: Remote histological study. Rev Esp Endodoncia 1983;1:33- 8.
7. Holland R, Soares IJ. Influence of irrigation and intracanal dressing on the healing process of dog's teeth with apical periodontitis. Endod Dental Traumatol 1992;8:223-9.
8. Holland R, González AC, Nery MJ, Souza V, Otoboni Filho JA, Bernabé PFE. Efecto de los medicamentos colocados en el interior interior del conducto, hidrosolubles y no hidrosolubles en el proceso de reparación de dientes de perro con lesión periapical. Endodoncia 1999;17:90-100.
9. Holland R, Otoboni Filho JA, Souza V, Nery MJ, Bernabé PF, Dezan-Júnior E. A comparison of one versus two appointment endodontic therapy in dogs' teeth with apical periodontitis. J Endod 2003;29:121-4.

10. Leonardo MR, Almeida WA, da Silva LA, Utrilla LS. Histopathological observations of periapical repair in teeth with radiolucent areas submitted to two different methods of root canal treatment. *J Endod* 1995;21:137-41.
11. Leonardo MR, Silveira FF, Silva LA, Tanomaru Filho M, Utrilla LS. Calcium hydroxide root canal dressing. Histopathological evaluation of periapical repair at different time periods. *Braz Dent J* 2002;13:17-22.
12. Leonardo MR, Hernandez ME, Silva LA, Tanomaru-Filho M. Effect of a calcium hydroxide-based root canal dressing on periapical repair in dogs: a histological study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;102:680-5.
13. Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Silva LA. Effect of irrigation solution and calcium hydroxide root canal dressing on the repair of apical and periapical tissues of teeth with periapical lesion. *J Endod* 2002;28:295-9.
14. Holland R, Souza V, Nery MJ, Otoboni Filho JA, Bernabé PFE, Dezan Junior E. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. *J Endod* 1999;25:161-6.
15. Holland R, Souza V, Nery MJ, Bernabé FE, Filho JA, Junior ED, Murata SS. Calcium salts deposition in rat connective tissue after the implantation of calcium hydroxide-containing sealers. *J Endod* 2002;28:173-6.
16. Bezerra da Silva LA, Leonardo MR, Silva RS, Assed S, Guimarães LFL. Calcium hydroxide root canal sealers: evaluation of pH, calcium ion concentration and conductivity. *Int Endod J* 1997;30:205-9.
17. Cobankara FK, Orucoglu H, Sengun A, Belli S. The quantitative evaluation of apical sealing of four endodontic sealers. *J Endod* 2006;32:66-8.
18. Holland R, de Souza V. Ability of a new calcium hydroxide root canal filling material to induce hard tissue formation. *J Endod* 1985;11:535-43.
19. Holland R, Mello W, Souza V, Nery MJ, Bernabé PFE, Otoboni-Filho JA. Comportamento dos tecidos periapicais de dentes de cães após a

- obturação de canal com Sealapex acrescido ou não de iodofórmio. Rev. Odont. UNESP 1990;19:97-104.
20. Holland R, Paula EC, Pereira ALS, Souza V, Saliba O. Infiltração marginal dos cimentos endodônticos. RGO 1991;39:413-6.
21. Holland R, Souza V, Nery MJ, Bernabé PFE, Mello W, Otoboni-Filho JA. Comportamento dos tecidos periapicais de dentes de cães com rizogênese incompleta após obturação de canal com diferentes materiais obturadores. RBO 1992;49:49-53.
22. Holland R, Murata SS, Souza V, Lopes HP, Saliba O. Análise do selamento marginal obtido com cimentos à base de hidróxido de cálcio. Revista da APCD 1996;50:61-4.
23. Holland R, Murata SS, Saito CTMH, Souza V, Bernabé PFE, Nery MJ, Otoboni-Filho JA, Dezan-Júnior E. Influência do emprego dos cimentos obturadores à base de hidróxido de cálcio no pH do ambiente periapical da raiz do dente e do sistema de canal radicular. Revista de Ciências Odontológicas 2001; 4:63-7.
24. Kaplan AE, Ormaechea MF, Picca M, Canzobre MC, Ubios AM. Rheological properties and biocompatibility of endodontic sealers. Int Endod J 2003;36:527-32.
25. Lee K-W, Williams MC, Camps JJ, Pashley DH. Adhesion of endodontic sealers to dentin and gutta-percha. J Endod 2002;28:684-8.
26. Yücel AÇ, Güler E, Güler AU, Ertas E. Bacterial penetration after obturation with four different root canal sealers. J Endod 2006;32:890-3.
27. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Bernabé PFE, Costa MTM. A mineral trioxide aggregate sealer stimulated mineralization. J Endod 2009;35:256-60.
28. Gomes Filho JE, Watanabe S, Gomes AC, Faria MD, Lodi CS, Oliveira SHP. Evaluation of the effects of endodontic materials on fibroblast viability and cytokine production. J Endod 2009;35:1577-79.
29. Baek SH, Plenk-Júnior H, Kim S. Periapical tissue responses and cementum regeneration with amalgam, superEBA, and MTA as root-end filling materials. J Endod 2005;31:444-9.
30. Cintra LTA, Moraes IG, Bernabé PFE, Gomes-Filho JE, Bramante CM, Garcia RB, Bernardinelli N. Evaluation of the tissue response to MTA

- and MBPC: Microscopic analysis of implants in alveolar bone of rats. J Endod 2006;32:556-9.
31. Estrela C, Bammann LL, Estrela CRA, Silva RS, Pécora JD. Antimicrobial and chemical study of mta, portland cement, calcium hydroxide paste, sealapex and dycal. Braz Dent J 2000;11:3-9.
 32. Fischer EI, Arens DE, Miller CH. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as compared with zinc-free amalgam, intermediate restorative material, and super-eba as a root-end filling material. J Endod 1998;24:176-9.
 33. Holland R, Otoboni-Filho JA, Souza V, Nery MJ, Bernabé PFE, Dezan-Júnior E. Mineral trioxide aggregate repair of lateral root perforations. J Endod 2001;27:281-4.
 34. Holland R, Souza V, Murata SS, Nery MJ, Bernabé PFE, Otoboni-Filho JA, Dezan-Júnior E. Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and pulp covering with mineral trioxide aggregate or portland cement. Braz Dent J 2001;12:109-13.
 35. Holland R, Souza V, Nery MJ, Bernabé PFE, Otoboni-Filho JA, Dezan-Júnior E. Agregado de trióxido mineral y cemento portland em La obturación de conductos radiculares de perro. Endodoncia 2001;19:275-80.
 36. Main C, Mirzayan N, Shabahang S, Torabinejad M. Repair of root perforations using mineral trioxide aggregate: A long-term study. J Endod 2004;30:80-3.
 37. Nakata TT, Bae KS, Baumgartner JC. Perforation repair comparing mineral trioxide aggregate and amalgam using an anaerobic bacterial leakage model. J Endod 1998;24:184-6.
 38. Thomson TS, Berry JE, Somerman MJ, Kirkwood KL. Cementoblasts maintain expression of osteocalcin in the presence of mineral trioxide aggregate. J Endod 2003;29:407-12.
 39. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. J Endod 1995;21:349-53.
 40. Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Antibacterial effects of some root end filling materials. J Endod 1995;21:403-6.

41. Torabinejad M, Rastegar AF, Kettering JD, Pitt Ford TR. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. J Endod 1995;21:109-12.
42. Torabinejad M, Smith PW, Kettering JD, Pitt Ford TR. Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. J Endod 1995;21:295-9.
43. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. J Endod 1999;25:197-205.

ANEXO 1



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

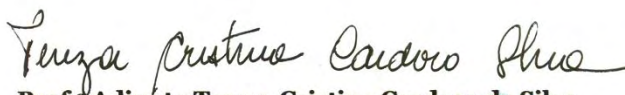


COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(CEEA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto **"AVALIAÇÃO DA BIOCOMPATIBILIDADE DOS CIMENTOS ENDODÔNTICOS: MTA OBTURA, ENDO-COM-SEALER® E SEALAPEX®"** sob responsabilidade do **Prof. Ass. João Eduardo Gomes Filho** e colaboradores **Simone Watanabe e Pedro Felício Estrada Bernabé** está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA em 10/02/2009 de acordo com o protocolo 2009-000519.

Araçatuba, 10 de Fevereiro de 2009



Prof.ª Adjunto Tereza Cristina Cardoso da Silva

Presidente da CEEA- FOA/UNESP

Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária – Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, Rua Clóvis Pestana, 793 CEP 16050-680 Araçatuba – SP
Tel (18) 3636- 1350 Fax (18) 3636- 1352 E-mail: dapsa@fmva.unesp.br

ANEXO 2



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

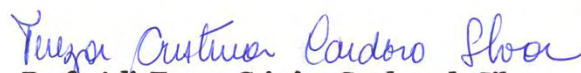


COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(CEEA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto **"AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE REPARO DOS CIMENTOS ENDODÔNTICOS: MTA Obtura, Endo-CPM-Sealer® e Sealapex®"** sob responsabilidade do **Prof. Dr. João Eduardo Gomes Filho** e colaboração de **Simone Watanabe** está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA em 23/04/2009 de acordo com o protocolo 2009-002682.

Araçatuba, 23 de Abril de 2009


Prof.ª Adj. Tereza Cristina Cardoso da Silva

Presidente da CEEA- FOA/UNESP

Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária – Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, Rua Clóvis Pestana, 793 CEP 16050-680 Araçatuba – SP
Tel (18) 3636- 1350 Fax (18) 3636- 1352 E-mail: dapsa@fmva.unesp.br

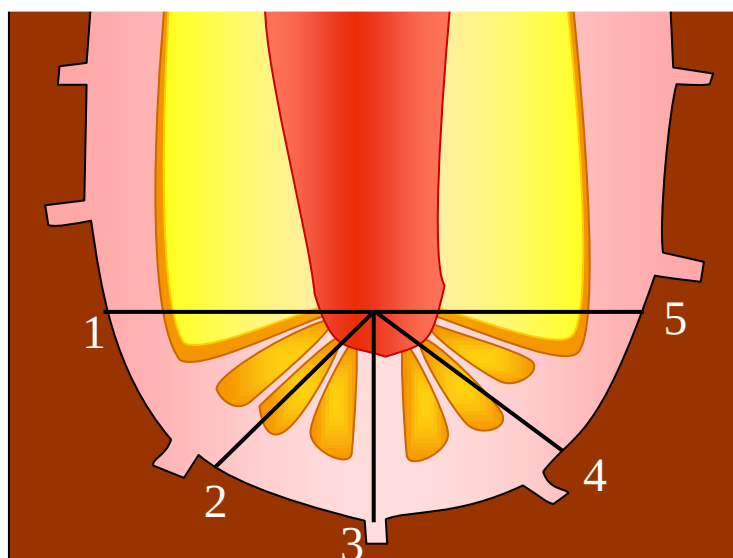
ANEXO 3

ANEXO 3

CRITÉRIOS PARA ANÁLISE HISTOMORFOLÓGICA

Esta análise foi realizada avaliando-se as condições histopatológicas das estruturas examinadas, em itens distintos, atribuindo-se magnitudes registradas sob a forma de escores de 1 a 4, onde o 1 corresponde ao melhor desempenho de reparação e o 4 corresponde à pior condição de reparação. Durante a realização das análises, foram definidos pontos onde seriam efetuadas as medidas das espessuras do cimento neoformado e do ligamento periodontal (Fig.1).

Legenda



Pontos 1 e 5 - locais do início da circunferência apical.

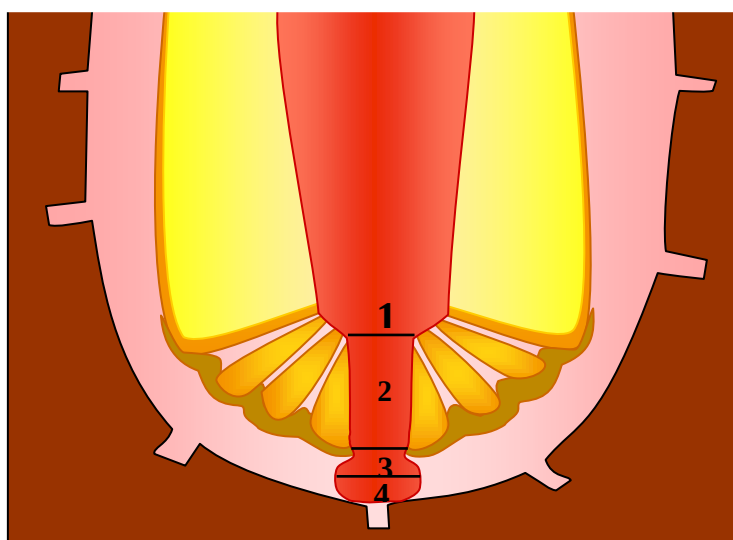
Ponto 3 - local correspondente ao vértice apical.

Pontos 2 e 4 - locais correspondentes respectivamente às distâncias médias entre os pontos 1 e 3 e os pontos 3 e 5.

Figura 1 - Locais definidos para tomadas das medidas das espessuras do cimento neoformado e do ligamento periodontal.

LIMITE DA OBTURAÇÃO

Aos limites apicais das obturações dos canais foram atribuídos escores em conformidade com os valores expressos na Fig.2.



Legenda

1 – aquém (limite CDC)

2 – além do limite CDC, até o nível do forame

3 – pouco além do forame

4 – muito além do forame

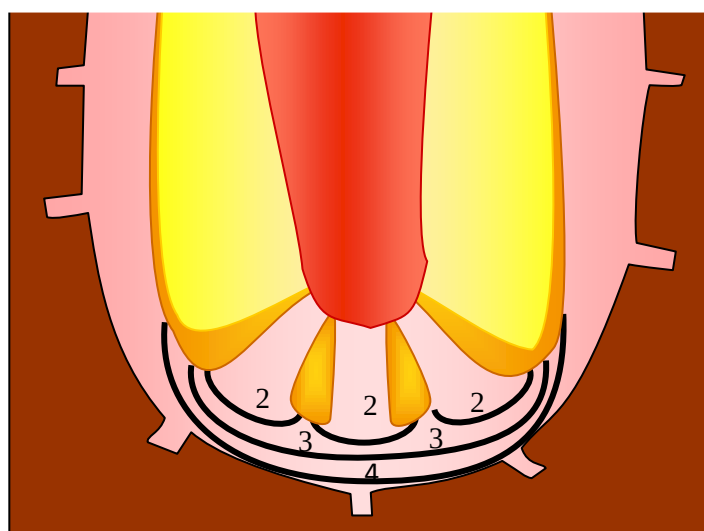
Figura 2 – Representação esquemática dos limites da obturação do canal radicular.

INFILTRADO INFLAMATÓRIO AGUDO OU CRÔNICO

I. Quanto à intensidade: A intensidade do processo inflamatório presente foi dimensionada em conformidade com o número médio aproximado de células inflamatórias presentes em diferentes campos, de um mesmo espécime, examinados em aumento de 400 X, tendo recebido os seguintes escores:

- 1 - ausente ou em número desprezível;
- 2 - leve: número de células inflamatórias inferior a 10;
- 3 - moderado: número de células inflamatórias entre 10 e 25;
- 4 - severo: número de células inflamatórias superior a 25.

II. Quanto à extensão: A extensão do infiltrado inflamatório presente foi atribuído valor em forma de escore conforme o ilustrado na Fig.3.



Legenda

- 1 – ausente
- 2 – dentro das ramificações ou junto aos forames
- 3 – pouco além dos forames
- 4 – invadem todo o espaço periodontal apical

Figura 3 - Representação esquemática da extensão do infiltrado inflamatório.

LIGAMENTO PERIODONTAL APICAL

I. A espessura do ligamento foi dimensionada baseando-se na média das medidas efetuadas nos cinco pontos definidos anteriormente, definindo os seguintes escores (Fig. 1):

- 1 - até 200 μm ;
- 2 - de 201 a 300 μm ;
- 3 - de 301 a 400 μm ;
- 4 - acima de 401 μm .

II. Fibras do ligamento - À presença e organização das fibras do ligamento foram atribuídos os seguintes escores:

- 1 - inserem-se do cimento ao osso em toda porção apical (Fig. 4);
- 2 - inserem-se do cimento ao osso em parte da porção apical (Fig. 5);
- 3 - correm paralelamente à superfície do dente (Fig. 6);
- 4 - ausência de organização (Fig. 7).

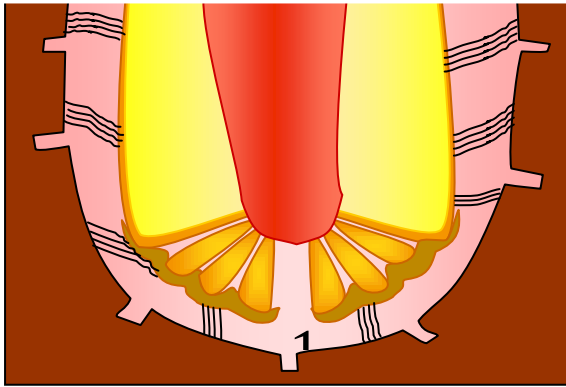


Figura 4 - Representação esquemática da inserção das fibras do ligamento periodontal apical do cimento ao osso alveolar em toda porção apical.

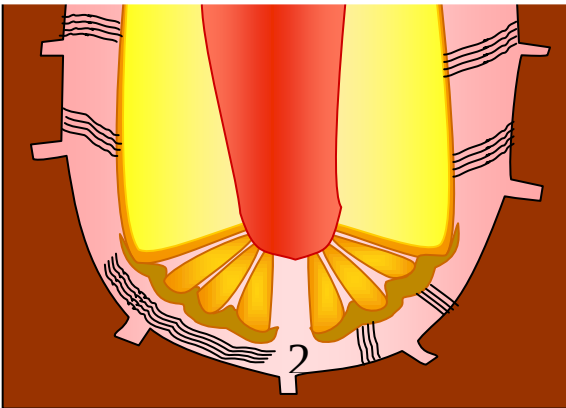


Figura 5 - Representação esquemática da inserção das fibras do ligamento periodontal apical do cimento ao osso alveolar em parte da porção apical.

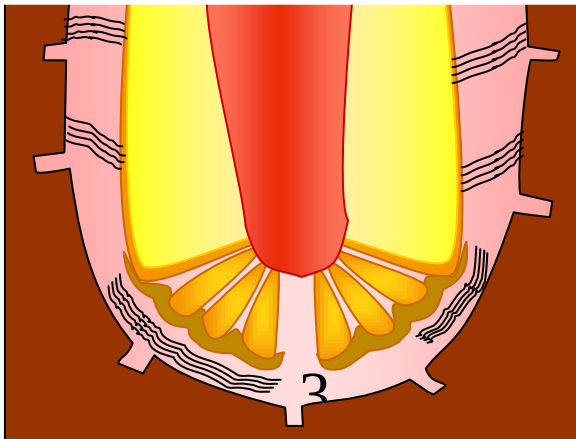


Figura 6 - Representação esquemática da disposição das fibras do ligamento periodontal apical correndo paralelamente à superfície do dente.

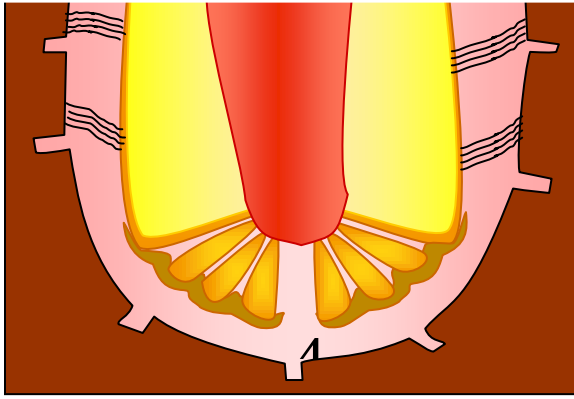


Figura 7 - Representação esquemática da ausência de organização das fibras do ligamento periodontal apical.

CEMENTO

Foram atribuídos escores à espessura e extensão do cimento neoformado, selamento biológico e áreas de reabsorção, conforme os seguintes critérios:

I - Espessura do cimento neoformado:

- 1 - acima de 60 μm ;
- 2 - de 20 a 59 μm ;
- 3 - de 1 a 19 μm ;
- 4 - ausência de cimento neoformado.

II - Extensão do cimento neoformado:

- 1 - repara todas as áreas de reabsorção ou recobre o cimento pré-existente;
- 2 - repara 1/2 a 2/3 das áreas de reabsorção;
- 3 - repara 1/3 ou menos das áreas de reabsorção;
- 4 - ausência de cimento reparando áreas de reabsorção.

III - Selamento biológico dos canais do delta apical:

- 1 - completo (Fig. 8);
- 2 - completo na maioria das ramificações (Fig. 9);
- 3 - completo em poucas ramificações (Fig. 10);
- 4 - ausência (Fig. 11).

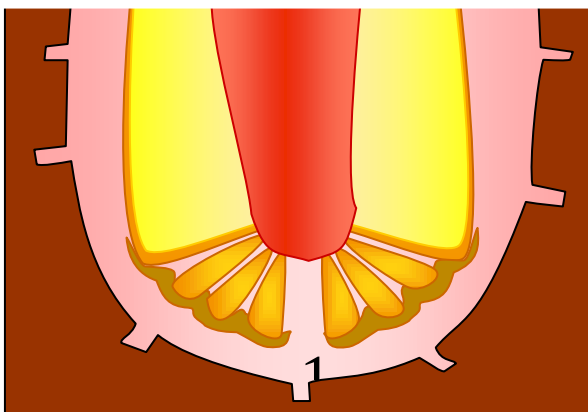


Figura 8 - Representação esquemática do selamento biológico completo dos canais do delta apical.

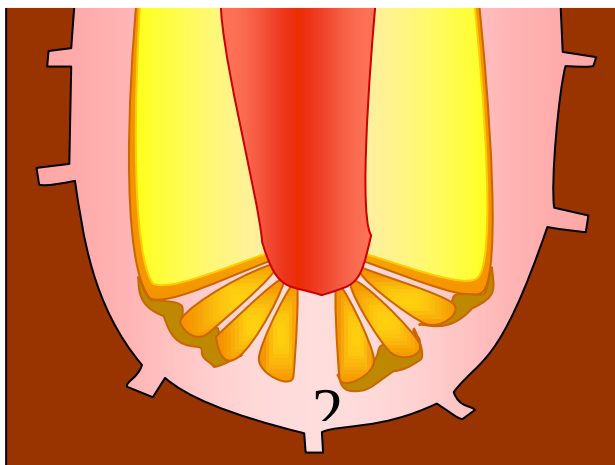


Figura 9 - Representação esquemática do selamento biológico completo na maioria dos canais do delta apical.

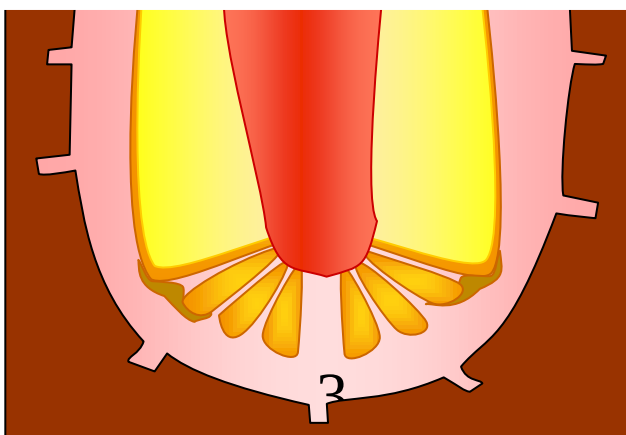


Figura 10 - Representação esquemática do selamento biológico completo em poucos canais dos canais do delta apical.

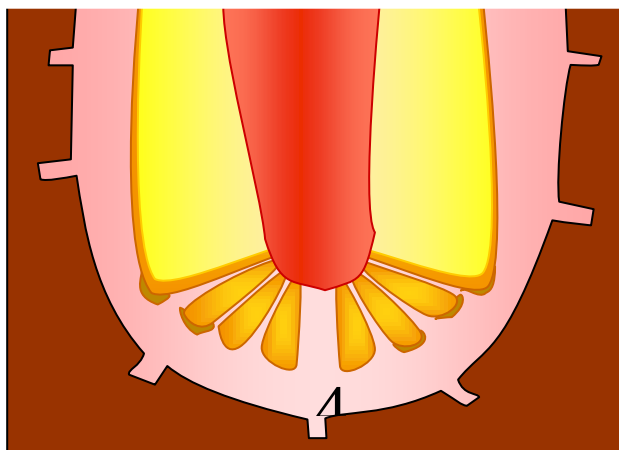


Figura 11 - Representação esquemática da ausência de selamento biológico dos canais do delta apical.

IV – Selamento biológico do canal principal:

- 1 - selamento biológico completo (Fig. 12);
- 2 - selamento biológico parcial (Fig. 13);
- 3 - deposição de cimento nas paredes laterais (Fig. 14);
- 4 - ausência de cimento neoformado (Fig. 15).

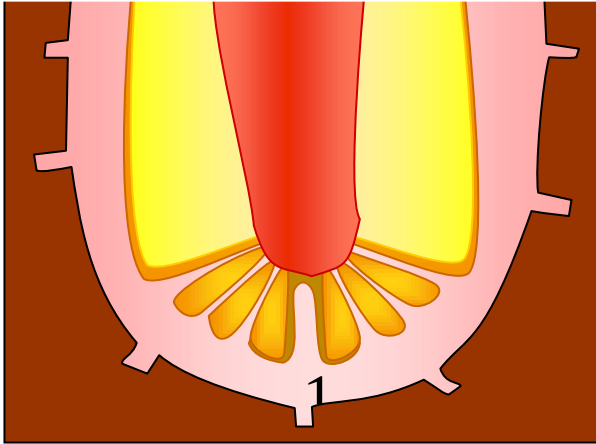


Figura 12 - Representação esquemática do selamento biológico completo do canal principal.

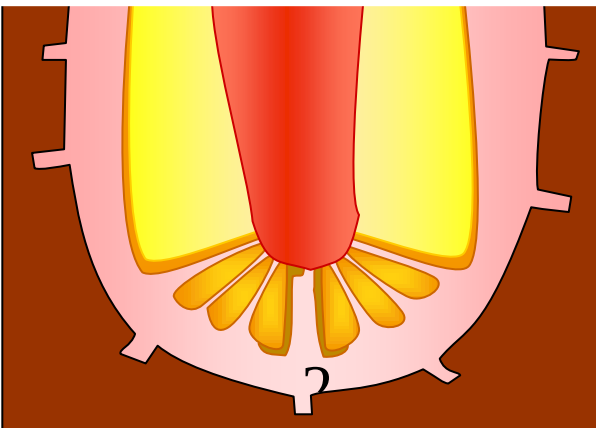


Figura 13 - Representação esquemática do selamento biológico parcial do canal principal.

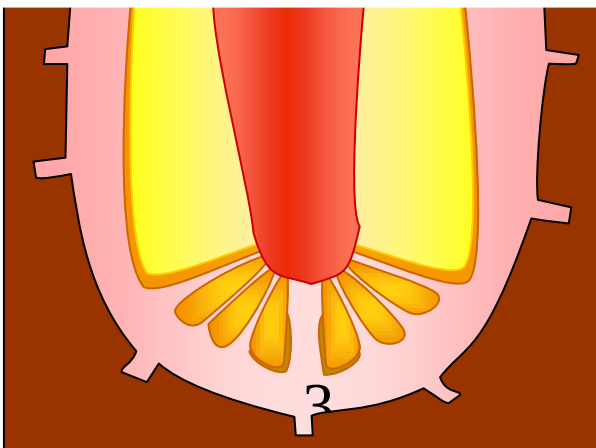


Figura 14 - Representação esquemática da deposição de cimento nas paredes laterais do canal principal.

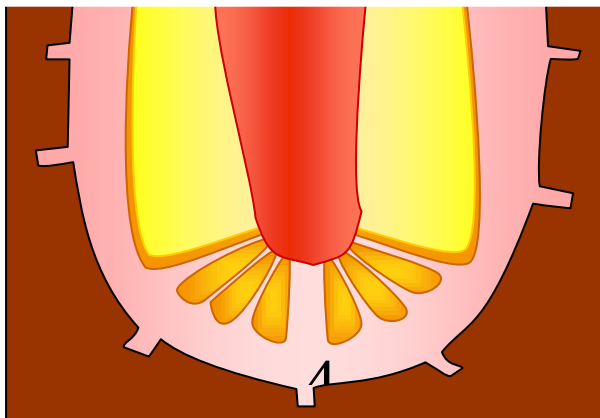


Figura 15 - Representação esquemática da ausência de cimento neoformado do canal principal.

V – Áreas de reabsorção:

- 1 - ausência ou áreas de reabsorção completamente reparadas;
- 2 - áreas de reabsorção reparadas parcialmente;
- 3 - áreas de reabsorção não reparadas;
- 4 - áreas de reabsorção ativas.

TECIDO ÓSSEO

Às áreas de reabsorção do tecido ósseo atribuiu-se escores conforme os seguintes critérios:

Reabsorção:

- 1 - ausência;
- 2 - áreas inativas;
- 3 - poucas áreas ativas;
- 4 - muitas áreas ativas.

DETRITOS

A presença de detritos entre o material obturador e os tecidos periapicais recebeu os seguintes escores:

- 1 - ausência;
- 2 - presença discreta;
- 3 - presença moderada;
- 4 - presença intensa.

PRESENÇA DE CÉLULAS GIGANTES

Foram atribuídos os seguintes escores:

- 1 - ausência;
- 2 - discreta - 1 a 3 células;
- 3 - moderada - 4 a 6 células;
- 4 - intensa - 7 ou mais células;

PRESENÇA DE MICRORGANISMOS

Na análise da presença ou não de microrganismos, detectados pela técnica de Brown & Brenn, levou-se em consideração a região do delta apical. Assim, a descrição da presença de bactérias foi limitada aos canais do delta apical, extremidade apical do canal principal e lacunas do cimento. Shovelton (1964)¹⁸⁶ dimensionou a quantidade de bactérias, presentes na dentina, em função do número de túbulos dentinários contaminados. Portanto, levando-se em consideração o critério desse autor, a presença de microrganismos foi dimensionada, apenas para a análise descritiva dos resultados, como pequena, moderada e grande, conforme o número de ramificações do delta apical e lacunas do cimento contaminadas. Quanto à atribuição de escores, no entanto, o critério adotado foi apenas de presença ou ausência de bactérias.

1 - ausência;

4 – presença.

ANEXO 4

ANEXO 4

Guidelines for Publishing Papers in the JOE

Writing an effective article is a challenging assignment. The following guidelines are provided to assist authors in submitting manuscripts.

The *JOE* publishes original and review articles related to the scientific and applied aspects of endodontics. Moreover, the *JOE* has a diverse readership that includes full-time clinicians, full-time academicians, residents, students and scientists. Effective communication with this diverse readership requires careful attention to writing style.

General Points on Composition

Authors are strongly encouraged to analyze their final draft with both software (e.g., spelling and grammar programs) and colleagues who have expertise in English grammar. References listed at the end of this section provide a more extensive review of rules of English grammar and guidelines for writing a scientific article. Always remember that clarity is the most important feature of scientific writing. Scientific articles must be clear and precise in their content and concise in their delivery since their purpose is to inform the reader. The Editor reserves the right to edit all manuscripts or to reject those manuscripts that lack clarity or precision, or have unacceptable grammar. The following list represents common errors in manuscripts submitted to the *JOE*:

a. The paragraph is the ideal unit of organization. Paragraphs typically start with an introductory sentence that is followed by sentences that describe additional detail or examples. The last sentence of the paragraph provides conclusions and forms a transition to the next paragraph. Common problems include one-sentence paragraphs, sentences that do not develop the theme of the paragraph (see also section “c”, below), or sentences with little to no transition within a paragraph.

b. Keep to the point. The subject of the sentence should support the subject of the paragraph. For example, the introduction of authors’ names in a sentence changes the subject and lengthens the text. In a paragraph on sodium hypochlorite, the sentence, “In 1983, Langeland et al., reported that sodium hypochlorite acts as a lubricating factor during instrumentation and helps to flush debris from the root canals” can be edited to: “Sodium hypochlorite acts as a lubricant during instrumentation and as a vehicle for flushing the generated debris (Langeland et al., 1983)”. In this example, the paragraph’s subject is sodium hypochlorite and sentences should focus on this subject.

c. Sentences are stronger when written in the active voice, i.e., the subject performs the action. Passive sentences are identified by the use of passive verbs such as “was,” “were,” “could,” etc. For example: “Dexamethasone was found in this study to be a factor that was associated with reduced inflammation”, can be edited to: “Our results demonstrated that dexamethasone reduced inflammation”. Sentences written in a direct and active voice are generally more powerful and shorter than sentences written in the passive voice.

d. Reduce verbiage. Short sentences are easier to understand. The inclusion of unnecessary words is often associated with the use of a passive voice, a lack of focus or run-on sentences. This is not to imply that all sentences need be short or even the same length. Indeed, variation in sentence structure and length often helps to maintain reader interest. However, make all words count. A more formal way of stating this point is that the use of subordinate clauses adds

variety and information when constructing a paragraph.(This section was written deliberately with sentences of varying length to illustrate this point.)

e. Use parallel construction to express related ideas. For example, the sentence, “Formerly, Endodontics was taught by hand instrumentation, while now rotary instrumentation is the common method”, can be edited to “Formerly, Endodontics was taught using hand instrumentation; now it is commonly taught using rotary instrumentation”. The use of parallel construction in sentences simply means that similar ideas are expressed in similar ways, and this helps the reader recognize that the ideas are related.

f. Keep modifying phrases close to the word that they modify. This is a common problem in complex sentences that may confuse the reader. For example, the statement, “Accordingly, when conclusions are drawn from the results of this study, caution must be used”, can be edited to “Caution must be used when conclusions are drawn from the results of this study”.

g. To summarize these points, effective sentences are clear and precise, and often are short, simple and focused on one key point that supports the paragraph’s theme.

General Points on the Organization of Original Research Manuscripts

- a. **Please Note:** *Starting in 2009, all abstracts should be organized into sections that start with a one-word title (in bold), i.e., Introduction, Methods, Results, Conclusions, etc., and should not exceed more than 250 words in length.*
- b. **Title Page:** The title should describe the major conclusion of the paper. It should be as short as possible without loss of clarity. Remember that the title is your advertising billboard—it represents your major opportunity to solicit readers to spend the time to read your paper. It is best not to use abbreviations in the title since this may lead to imprecise coding by electronic citation programs such as PubMed (e.g., use “sodium hypochlorite” rather than NaOCl). The author list must conform to published standards on authorship (see authorship criteria in the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals at www.icmje.org).
- c. **Abstract:** The abstract should concisely describe the purpose of the study, the hypothesis, methods, major findings and conclusions. The abstract should describe the new contributions made by this study. The word limitations (250 words) and the wide distribution of the abstract (e.g., PubMed) make this section challenging to write clearly. This section often is written last by many authors since they can draw on the rest of the manuscript. Write the abstract in past tense since the study has been completed. Three to ten keywords should be listed below the abstract.
- d. **Introduction:** The introduction should briefly review the pertinent literature in order to identify the gap in knowledge that the study is intended to address. The purpose of the study, the tested hypothesis and its scope should be described. Authors should realize that this section of the paper is their primary opportunity to establish communication with the diverse readership of the *JOE*. Readers who are not expert in the topic of the manuscript are likely to skip the paper if the introduction fails to provide sufficient detail. However, many successful manuscripts require no more than a few paragraphs to accomplish these goals.
- e. **Material and Methods:** The objective of the methods section is to permit other investigators to repeat your experiments. The three components to this section are the experimental design, the procedures employed, and the statistical tests used to analyze the results. The vast majority of manuscripts should cite prior studies using similar

- f. methods and succinctly describe the particular aspects used in the present study. The inclusion of a “methods figure” will be rejected unless the procedure is novel and requires an illustration for comprehension. If the method is novel, then the authors should carefully describe the method and include validation experiments. If the study utilized a commercial product, the manuscript should state that they either followed manufacturer’s protocol or specify any changes made to the protocol. Studies on humans should conform to the Helsinki Declaration of 1975 and state that the institutional IRB approved the protocol and that informed consent was obtained. Studies involving animals should state that the institutional animal care and use committee approved the protocol. The statistical analysis section should describe which tests were used to analyze which dependent measures; p-values should be specified. Additional details may include randomization scheme, stratification (if any), power analysis, drop-outs from clinical trials, etc.
- g. **Results:** Only experimental results are appropriate in this section (i.e., neither methods nor conclusions should be in this section). Include only those data that are critical for the study. Do not include all available data without justification, any repetitive findings will be rejected from publication. All Figs./Charts/Tables should be described in their order of numbering with a brief description of the major findings.

Figures: There are two general types of figures. The first type of figure includes photographs, radiographs or micrographs. Include only essential figures, and even if essential, the use of composite figures containing several panels of photographs is encouraged. For example, most photo-, radio- or micrographs take up one column-width, or about 185 mm wide X 185 mm tall. If instead, you construct a two columns-width figure (i.e., about 175 mm wide X 125 mm high when published in the *JOE*), you would be able to place about 12 panels of photomicrographs (or radiographs, etc.) as an array of four columns across and three rows down (with each panel about 40 X 40 mm). This will require some editing on your part given the small size of each panel, you will only be able to illustrate the most important feature of each photomicrograph. Remember that each panel must be clearly identified with a letter (e.g., “A”, “B”, etc.), in order for the reader to understand each individual panel. Several nice examples of composite figures are seen in recent articles by Chang, et al, (*JOE* 28:90, 2002), Hayashi, et al, (*JOE* 28:120, 2002) and by Davis, et al (*JOE* 28:464, 2002). At the Editor’s discretion, color figures may be published at no cost to the authors. However, the Editor is limited by a yearly allowance and this offer does not include printing of reprints.

The second type of figure are graphs (i.e., line drawings) that plot a dependent measure (on the Y axis) as a function of an independent measure (usually plotted on the X axis). Examples include a graph depicting pain scores over time, etc. Graphs should be used when the overall trend of the results are more important than the exact numerical values of the results. For example, a graph is a convenient way of reporting that an ibuprofen treated group reported less pain than a placebo group over the first 24 hours, but was the same as the placebo group for the next 96 hours. In this case, the trend of the results is the primary finding; the actual pain scores are not as critical as the relative differences between the NSAID and placebo groups.

Tables: Tables are appropriate when it is critical to present exact numerical values. However, not all results need be placed in either a table or figure. For example, the following table may not necessary:

% NaOCl	N/Group	% Inhibition of Growth
0.001	5	0
0.003	5	0
0.01	5	0
0.03	5	0
0.1	5	100
0.3	5	100
1	5	100
3	5	100

Instead, the results could simply state that there was no inhibition of growth from 0.001–0.03% NaOCl, and a 100% inhibition of growth from 0.03–3% NaOCl (N=5/group). Similarly, if the results are not significant, then it is probably not necessary to include the results in either a table or as a figure. These and many other suggestions on figure and table construction are described in additional detail in Day (1998).

- f. **Discussion:** The conclusion section should describe the major findings of the study. Both the strength and weaknesses of the observations should be discussed. What are the major conclusions of the study? How does the data support these conclusions? How do these findings compare to the published literature? What are the clinical implications? Although this last section might be tentative given the nature of a particular study, the authors should realize that even preliminary clinical implications might have value for the clinical readership. Ideally, a review of the potential clinical significance is the last section of the discussion.
- g. **References:** The reference style follows Index Medicus and can be efficiently learned from reading past issues of the *JOE*. Citations are placed in parentheses at the end of a sentence or at the end of a clause that requires a literature citation. Do not use superscript for references. Original reports are limited to 35 references. There are no limits in the number of references for review articles.

4. Page Limitations for Manuscripts in the Category of Basic Science/Endodontic Techniques

- a. **What is the limitation?** Original research reports in the category of basic science/endodontic techniques are limited to no more than 2,000 words (total for the abstract, introduction, methods, results and conclusions), and a total of three Figs./Charts/Tables. If a composite figure is used (as described above), then this will count as two of the three permitted Figs./Charts/Tables.
- b. **Does this apply to me?** Manuscripts submitted to the *JOE* can be broadly divided into several categories including review articles, clinical trials (e.g., prospective

or retrospective studies on patients or patient records, or research on biopsies excluding the use of human teeth for technique studies), basic science/biology (animal or culture studies on biological research related to endodontics, or relevant pathology or physiology), and basic science/techniques (e.g., stress/strain/compression/strength/failure/composition studies on endodontic instruments or materials). Manuscripts submitted in this last category are the only category subject to these limitations. If you are not sure whether your manuscript falls within this category please contact the Editor by e-mail at jendodontics@uthscsa.edu.

- c. **Why page limitations?** Most surveyed stakeholders of the *JOE* desire timely publication of submitted manuscripts and an extension of papers to include review articles and other features. To accomplish these goals, we must reduce the average length of manuscripts since increasing the *JOE*'s number of published pages is prohibitively expensive. Although a difficult decision, restricting this one category of manuscripts accomplishes nearly all of these goals since ~40–50% of published papers are in this category.
- d. **How do I make my manuscript fit these limitations?** Adhering to the general writing methods described in these guidelines (and in the resources listed below) will help to reduce the size of the manuscript. Authors are encouraged to focus on only the essential aspects of the study and to avoid inclusion of extraneous text and figures. The Editor will reject manuscripts that exceed these limitations.

Available Resources:

- . Strunk W, White EB. The Elements of Style. Allyn & Bacon, 4th ed, 2000, ISBN 020530902X
 - a. Day R.. How to Write and Publish a Scientific Paper. Oryx Press, 5th ed. 1998. ISBN 1-57356-164-9
 - b. Woods G. English Grammar for Dummies. Hungry Minds:NY, 2001 (an entertaining review of grammar)
 - c. Alley M. The Craft of Scientific Writing. Springer, 3rd edition 1996 SBN 0-387-94766-3.
 - d. Alley M. The Craft of Editing. Springer, 2000 SBN 0-387-98964-1.

ANEXO 5

Técnica para inclusão em Glicol Metacrilato (Leica – Historesin)

- 1) Lavar em água corrente no mínimo 5 horas;
- 2) Desidratar em álcool 70% por uma noite;
- 3) No dia seguinte:
 - A) Álcool 90% por 30 minutos;
 - B) Álcool 90% por 30 minutos;
 - C) Álcool 90% por 30 minutos;
 - D) Álcool 95% por 30 minutos;
 - E) Álcool 95% por 30 minutos;
 - F) Álcool 95% por 30 minutos;
- 4) Colocar as peças desidratadas na solução A ativada e deixar por 72 horas (temperatura ambiente);
- 5) Isolar os moldes de plástico próprio para inclusão com spray de teflon, colocar as peças no interior dos moldes, cobrir as peças com resina para inclusão (leica – historesin), depois de polimerizada, preencher com resina acrílica autopolimerizante e aguardar a polimerização.

Técnica para Coloração em Hematoxilina e Eosina (para peças incluídas em Glicol Metacrilato)

Peças cortadas em 3 µm.

- 1) Hidratar rapidamente em água destilada;
- 2) Colocar na Hematoxilina – 30 minutos;
- 3) Lavar em água corrente até remover o excesso de corante;
- 4) Colocar na Eosina – 5 minutos;
- 5) Lavar em água corrente até remover o excesso de corante;
- 6) Deixar secar na estufa, montar com Entelan e lamínula.

Técnica para Coloração em Von Kossa (para peças incluídas em Glicol Metacrilato)

Peças cortadas em 10 µm.

- 1) Hidratar rapidamente em água destilada;

- 2) Colocar sobre os cortes nitrato de prata 1% e deixar sob a luz solar por no mínimo 15 minutos;
- 3) Lavar em água corrente para remover o excesso de nitrato de prata;
- 4) Colocar no tiosulfato de sódio 5% - 30 segundos;
- 5) Lavar em água corrente - 1 minuto;
- 6) Colocar na safranina 0,5% - 30 segundos;
- 7) Lavar em água corrente para remover o excesso do corante.
- 8) Deixar secar na estufa, montar com Entelan e lamínula.

Técnica para Luz Polarizada (para peças incluídas em Glicol Metacrilato)

Peças cortadas em 10 μm .

- 1) Lâminas secas e montar com Entelan e lamínula.