



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

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA RESTAURADORA

DISCIPLINA DE ENDODONTIA

LETÍCIA SANTINI VERNIER

**Influência da hipertensão arterial na resposta
inflamatória tecidual e na mineralização do MTA
branco**

ARAÇATUBA-SP

2016



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Araçatuba

LETÍCIA SANTINI VERNIER

**Influência da Hipertensão Arterial na resposta
inflamatória tecidual e na mineralização do MTA
Branco**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Tit. João Eduardo Gomes Filho

ARAÇATUBA-SP

2016

Dedicatória

Aos meus pais, Sineval Vernier e Ediléia de Cássia Santini Vernier, que não mediram esforços para que esse sonho fosse realizado. Sou muito grata pelo apoio que sempre me deram, por me motivarem nos momentos em que eu desanimei e por me inspirarem a ser uma pessoa sempre melhor. A força que tive para lutar pelos meus objetivos e ideais com certeza veio deles. Sem eles nada disso seria possível.

À minha irmã, Larissa Santini Vernier, por sempre se fazer presente, apesar da distância. Minha companheira de vida, uma pessoa que sente orgulho de quem eu estou me tornando, um orgulho que é recíproco. Meu maior presente, você me completa.

Ao Professor Titular João Eduardo Gomes Filho, que me deu oportunidade de participar do projeto de pesquisa, me aceitando com todo carinho, atenção e dedicação.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida. Por ter me dado a capacidade de atingir os meus objetivos e chegar aonde cheguei. Pelas pessoas que Ele colocou em meu caminho durante essa jornada na faculdade. Sem Tua presença nada seria possível.

À minha família, minha eterna gratidão. Pelos incentivos e por não medirem esforços para que esse sonho fosse realizado.

Ao Professor João, minha eterna admiração pela sua competência e humildade em transmitir seus conhecimentos e pela oportunidade de iniciar na pesquisa científica.

À Índia Olinta de Azevedo e Christine Men Martins, que sempre prontificaram-se a me ajudar em qualquer dificuldade em relação à pesquisa ou em relação à organização de trabalhos e apresentações em congressos.

Ao meu namorado, João Paulo Thomaz, pela torcida e apoio durante esses cinco anos de graduação. Muito obrigada pelo companheirismo e por se fazer presente em todos os momentos, apesar da distância.

Às minhas amigas, Amanda Fregadolli, Daniela Bassan, Dálete Samylle, Karina Andrade, Larissa Mazzoni, Mariana Caixeta, e Marília Brito. Obrigada pela amizade, torcida, apoio e ajuda em todos os momentos. Cada uma em especial, por tudo que passamos juntas.

À minha amiga Luciana Solera Sales, companheira de estágio e de graduação. Obrigada pelo auxílio e por sempre se prontificar a me ajudar em qualquer dúvida ou dificuldade que eu viesse a ter no desenvolvimento desse trabalho.

Aos professores de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Eloi Dezan Júnior, Luciano Tavares Angelo Cintra, Gustavo Sivieri, Rogério Castilho, por terem contribuído de forma inestimável com a minha formação ao longo do curso de graduação.

Aos funcionários da Disciplina de Endodontia, Nelci, Elaine e Peterson, pela disponibilidade e auxílio indispensável para o desenvolvimento do trabalho.

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba pela formação acadêmica e oportunidades de aprendizado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão do auxílio no desenvolvimento dessa pesquisa.

A todos que de certa forma contribuíram para elaboração e conclusão desse trabalho.

“ O esforço dirigido a um objetivo tem sempre por prêmio, com a consecução daquilo que se aspira, a satisfação que o triunfo proporciona. ”

Thomas Atkinson

VERNIER, LS. **Influência da Hipertensão Arterial na mineralização do MTA Branco**. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2016.

RESUMO

Objetivo: O presente estudo avaliou a relação entre a hipertensão arterial na resposta tecidual e na capacidade de mineralização do cimento endodôntico reparador MTA Ângelus® Branco. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados 16 ratos machos hipertensos (SHR) e 16 ratos machos normotensos Wistar, que receberam implantes de tubos de polietileno contendo MTA Ângelus® Branco ou vazio, como controle. Os períodos de avaliação foram de 07 e 30 dias, quando os tubos foram removidos e fixados. Os cortes histológicos foram corados com hematoxilina e eosina, por Von Kossa ou sem coloração para serem observados sob luz polarizada. As análises histomorfológicas qualitativas do processo inflamatório consistiram na descrição dos fenômenos inflamatórios observados microscopicamente nos cortes teciduais representativos de cada grupo e tempos pós-operatórios. As análises da mineralização consistiram na observação de estruturas mineralizadas presentes nos tecidos, que são representadas por áreas pretas nos cortes histológicos corados por Von Kossa, e pela presença de estruturas birrefringentes nos cortes histológicos analisados sob luz polarizada. **Resultados:** Foi observado que a resposta inflamatória foi mais acentuada em ratos hipertensos do grupo MTA branco, em comparação aos ratos normotensos e ao grupo controle. A coloração Von Kossa foi positiva e estruturas birrefringentes eram presentes no grupo MTA branco, tanto para os ratos hipertensos, quanto para os normotensos. Porém, as áreas de mineralização mais consistentes se apresentavam no grupo normotenso. O grupo controle apresentou coloração Von Kossa negativa e ausência de estruturas birrefringentes à luz polarizada. **Conclusão:** A hipertensão arterial pode afetar o prognóstico do tratamento endodôntico quando utilizado o MTA Ângelus® Branco, pois esse estado somático pode aumentar a resposta inflamatória e diminuir a capacidade de mineralização do material testado.

Palavras-chaves: Hipertensão. MTA. Resposta tecidual.

VERNIER, LS. **Influence of Hypertension in White MTA mineralization.**

Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2016.

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to evaluate the influence of hypertension on tissue response and mineralization capacity of the MTA Angelus Branco®. Methods: Thirty-two Wistar rats were divided into two groups: normotensive and hypertensive. Each animal received two polyethylene implants pipes in the dorsal region, containing the test material and one empty tube as control. Results: After 7:30 days of implantation, the animals were killed and the specimens removed and processed for histological analysis by hematoxylin and eosin, Von Kossa and polarized light. The qualitative morphometric analysis of inflammatory process consisted in the description of the inflammatory phenomenon observed microscopically in tissue sections representative of each group and post operative times. The mineralization analysis consisted in the observation of mineralization areas on tissues, which was represented by black areas on tissue sections colored by Von Kossa, and birefringent structures on tissue sections under polarized light. Results: It was observed that the inflammatory response was more pronounced in hypertensive rats of white MTA group compared to normotensive rats and the control group. Von Kossa staining was positive and birefringent structures were present in the white MTA group, for hypertensive and normotensive rats. However, the most consistent mineralization areas are presented in the normotensive group. The control group showed negative staining Von Kossa and absence birefringent structures under polarized light. Conclusion: High blood pressure can affect the prognosis of endodontic treatment when using the MTA White Angelus, because this somatic state can increase the inflammatory response and reduce mineralization capacity of the tested material.

Keywords: Hypertension. MTA. Tissue response.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Média do número de células inflamatórias associadas com tubos contendo MTA Branco e tubos vazios aos 7 e 30 dias para a hipertensão e normotensão.-----	19
Figura 2 - Resposta inflamatória do MTA branco e do tubo vazio (controle) aos 7 e 30 dias nas condições hipertensa e normotensa, determinada por coloração de H&E.-----	19
Figura 3 - Média da área de mineralização associada com o MTA branco ou o tubo vazio aos 7 e 30 dias para os ratos hipertensos e normotensos, determinados pela coloração de Von Kossa e luz polarizada.-----	21
Figura 4 - Mineralização em resposta do MTA branco ou ao tubo vazio aos 7 e 30 dias nas condições hipertensas e normotensas, determinada pela coloração de Von Kossa.-----	22
Figura 5 - Mineralização em resposta do MTA branco ou ao tubo vazio aos 7 e 30 dias nas condições hipertensas e normotensas, determinada pela luz polarizada.-----	22

LISTA DE ABREVIATURAS

CEUA= Comitê de ética no uso de animais.

H&E= Hematoxilina e eosina

MTA= Agregado Trióxido Mineral.

PVPI= Iodopovidona

SUMÁRIO

1 Introdução -----	11
2 Proposição -----	13
3 Materiais e Métodos -----	14
3.1 Animais -----	14
3.2 Cimento Reparador MTA Angelus branco-----	14
3.3 Tubos de polietileno -----	14
3.4 Procedimentos cirúrgicos -----	15
3.5 Processamento laboratorial e análise histológica qualitativa ---	15
4 Análise Estatística -----	17
5 Resultados-----	18
6 Discussão-----	23
7 Conclusão -----	24
Referências -----	25
Anexos-----	30

1 Introdução

As dores orofaciais de origem dental acometem grande parte da população mundial, sendo um problema significativo em saúde pública e o provável tratamento para essas dores refere-se à endodontia. Entre as pessoas acometidas por essas dores podem estar presentes as hipertensas, uma vez que a hipertensão arterial é uma desordem crônica de etiologia multifatorial e de grande expressividade na população brasileira e mundial¹, sendo que estudos apontam que cerca de 25% da população apresenta essa patologia⁽²⁾. Nos últimos anos vem se destacando um aumento dessa morbidade em decorrência da mudança dos padrões alimentares e estilo de vida da população, além do crescimento da população idosa e do aumento da longevidade³.

Essa desordem crônica se torna um dos principais fatores de risco para a ocorrência de doenças cardiovasculares e renais, colocando a hipertensão arterial em uma das primeiras posições no ranking de problemas mundial de saúde pública^{1,4,5}. Além disso, estudos clínicos e experimentais têm demonstrado uma relação causal entre a presença da hipertensão e a maior perda de cálcio dos ossos⁶⁻⁸

Estudos também associam a hipertensão e problemas bucais, como as doenças periodontais⁹⁻¹¹, o nível elevado de perda tardia de implantes em pessoas hipertensas devido à defeitos durante a osseointegração¹² e também dificuldades na cicatrização óssea em pessoas acometidas por essa morbidade após exodontias¹³⁻¹⁵. A doença periodontal e a periodontite apical crônica compartilham de uma microbiota comum composta por bactérias gram negativas anaeróbias e são processos inflamatórios semelhantes^{16,17}, portanto, dentro dessa linha, há uma possível associação entre a hipertensão arterial e o tratamento endodôntico.

O tratamento endodôntico objetiva o restabelecimento da normalidade dos tecidos apicais e periapicais perdidos¹⁸⁻²¹ por meio de uma limpeza profunda e desinfecção do sistema de canais radiculares para controlar os microorganismos patogênicos e do completo selamento tridimensional do canal radicular com materiais obturadores que apresentem propriedades

físicas e biológicas apropriadas para o reparo tecidual, por meio da indução da mineralização nos tecidos onde é aplicado²²⁻²⁸.

Com o objetivo inicial de proporcionar o selamento de comunicações patológicas ou iatrogênicas entre o sistema de canais radiculares e a superfície externa do dente, o MTA foi desenvolvido. Além disso, em decorrência das suas excelentes propriedades físico-químicas e biológicas, ele passou a ser utilizado também em pulpotomias, capeamentos pulpaes diretos, apicogêneses e apicificações^{24,29-40}.

Após estudos realizados com o MTA, demonstrou ser este um cimento biocompatível, hidrofílico, radiopaco, com ação antimicrobiana, apresenta boa capacidade de selamento marginal, é indutor de dentinogênese, cementogênese e osteogênese, não é tóxico e ou carcinogênico.

Considerando que uma das finalidades do MTA e seus produtos é participar na indução da mineralização nos tecidos onde é aplicado e que a hipertensão arterial é uma desordem crônica que induz uma mobilização do cálcio do osso a ser excretado pelos rins, justifica-se o estudo da resposta tecidual de animais hipertensos a materiais endodônticos indutores de mineralização.

2 Proposição

O objetivo desse estudo foi avaliar a relação entre a hipertensão arterial, a resposta tecidual e a capacidade de mineralização do cimento endodôntico reparador MTA Ângelus® Branco, por meio de um modelo experimental em ratos. Foram avaliadas e comparadas as respostas inflamatórias e mineralização ao cimento implantado em ratos normotensos e hipertensos.

Objetivos específicos:

- ✓ Analisar e quantificar a resposta inflamatória por meio da coloração de hematoxilina e eosina;
- ✓ Observar por meio da Luz Polarizada e coloração de Von Kossa a presença de tecido mineralizado;

3 Materiais e Métodos

O projeto foi apreciado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP de acordo com o protocolo 2013-00961.

3.1 Animais

Para a realização deste trabalho, foram utilizados 16 ratos machos espontaneamente hipertensos e 16 ratos machos normotensos Wistar, com idades aproximadas de 30 dias, pesando aproximadamente 250g, sendo provenientes do biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba UNESP.

Os animais foram mantidos em ambientes com temperatura entre 22°C e 24°C, com ciclo de luz controlada (12 horas claro e 12 horas escuro) e em gaiolas coletivas, contendo seis ratos por gaiola.

No interior das gaiolas havia cama de serragem, a qual era trocada diariamente. Os animais foram alimentados antes e durante todo o período experimental, com ração sólida triturada e água “ad libitum”, exceto nas primeiras 12 horas pré e pós-operatórias.

3.2 Cimento Reparador MTA Ângelus® Branco

O Ângelus MTA® é um cimento composto de óxidos minerais na forma de finas partículas hidrofílicas. Apresenta na sua composição SiO₂, K₂O, Al₂O₃, Na₂O, Fe₂O₃, SO₃, CaO, Bi₂O₃ e MgO. Além de resíduos insolúveis de sílica cristalina, óxido de cálcio e sulfatos de potássio e sódio.

O seu tempo de presa inicial, segundo o fabricante, é de aproximadamente 10 minutos e o final de 15 minutos.

3.3 Tubos de Polietileno

Foram utilizados 64 tubos de polietileno estéreis com 1,0 mm de diâmetro interno e 1,6 mm de diâmetro externo e 10,0 mm de comprimento. O material, depois de manipulado segundo a recomendação do fabricante, foi

introduzido nos tubos de polietileno de forma a preenchê-los completamente. No grupo controle, os tubos permaneceram vazios.

3.4 Procedimentos Cirúrgicos

Para a realização das intervenções cirúrgicas, os animais foram inicialmente pesados e anestesiados. O período de trabalho com cada animal não ultrapassou 5 minutos para que não houvesse a necessidade de complementação anestésica.

Após a anestesia de todos os ratos, foi feita a tricotomia da região dorsal e a lavagem da área com a finalidade de se evitar contaminação do campo cirúrgico pela presença de pêlos. A anti-sepsia da área desprovida de pêlos foi efetuada esfregando uma gaze embebida em solução aquosa 10% de PVPI por dois minutos. Em seguida, iniciou-se o procedimento cirúrgico, fazendo-se uma incisão com lâmina de bisturi número 15, no dorso do animal, (tendo a coluna vertebral como linha média de marcação). Foram criadas duas bolsas por divulsionamento. Uma bolsa recebeu um tubo vazio como controle e a outra recebeu o tubo contendo o material testado (MTA branco). O tecido foi suturado com fio de seda (4,0) não reabsorvível e anti-sepsia final, foi realizada com PVPI 10%.

Os animais foram acompanhados até se recuperarem da anestesia antes de retornarem ao biotério.

3.5 Processamento Laboratorial

Os períodos de avaliação foram de 07 e 30 dias⁴². A cada tempo experimental, quatro animais de cada grupo (hipertenso e normotenso) foram sacrificados. Após o sacrifício, foi realizada novamente uma tricotomia da região dorsal, e anti-sepsia da área com PVPI 10%. Em seguida, foi realizada uma nova incisão com lâmina de bisturi número 15, tendo a coluna vertebral como linha média de marcação, os tubos foram localizados e removidos juntamente com os tecidos que os envolvem e foram fixados em solução formalina 10% pH 7. As amostras foram processadas e incluídas em glicol metacrilato.⁴³.

Após isso, foram feitos cortes histológicos para as análises histomorfológicas qualitativas do processo inflamatório, que consistiram na descrição dos fenômenos inflamatórios observados microscopicamente nos cortes teciduais representativos de cada grupo e tempos pós-operatórios.

Foram feitos cortes histológicos em 3 μm para serem coradas com hematoxilina e eosina; 10 μm para serem coradas de acordo com a técnica de Von Kossa ou permanecerem sem coloração para serem observadas sob luz polarizada.

4 Análise Estatística

A avaliação microscópica dos cortes teciduais mais representativos de cada grupo e tempo pós-operatório foram realizados por dois observadores e os dados encontrados foram submetidos à análise estatística pelo programa Prisma 3.0 utilizando-se o Teste de ANOVA e Kruskal Wallis, sendo o nível de significância entre os grupos de $p < 0,05$.

5 Resultados

Resposta tecidual: reação inflamatória pela coloração de Hematoxilina e eosina

Controle (tubos vazios):

- Aos 07 e 30 dias, independente do estado sistêmico, foi observado um infiltrado celular inflamatório leve consistindo de linfócitos e macrófagos presentes na cápsula fibrosa fina em ambos os grupos hipertenso e normotenso (Figuras 1 e 2).

MTA Angelus Branco®:

- Em ratos normotensos foi observado, aos 07 e 30 dias, um infiltrado inflamatório leve, com cápsula fibrosa fina, consistindo de linfócitos e macrófagos. Nos ratos hipertensos, aos 7 e 30 dias, foi observado a presença de um maior número de células inflamatórias e a formação de uma cápsula fibrosa mais espessa, quando comparado aos normotensos (Figuras 1 e 2).

Figura 1. Média do número de células inflamatórias associadas com tubos contendo MTA Branco e tubos vazios aos 7 e 30 dias para a hipertensão e normotensão. (n = 6 por grupo). *Média dos números de células inflamatórias. ¹Diferença estatisticamente significativa entre os grupos hipertensos e a normotensos para o MTA branco ($P < 0.05$).

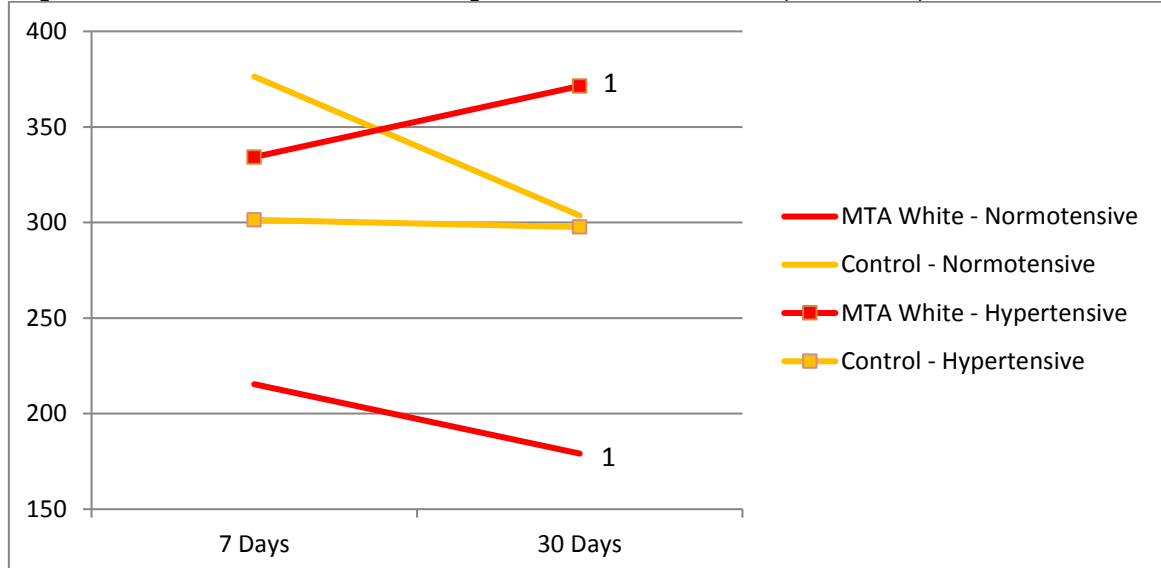
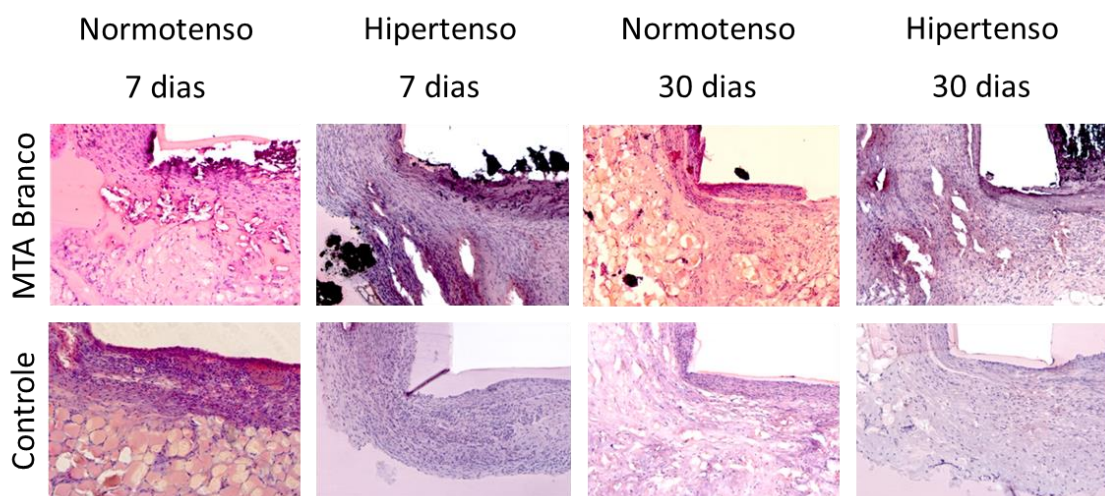


Figura 2. Resposta inflamatória do MTA branco e do tubo vazio (controle) aos 7 e 30 dias nas condições hipertensa e normotensa, determinada por coloração de H&E (n = 6 por grupo). Pela coloração de H&E (100×) observou-se a formação da cápsula fibrosa com infiltração de macrófagos e linfócitos. A resposta inflamatória foi maior para o grupo hipertenso na presença do MTA.



Mineralização: análise pelo Von Kossa e Luz Polarizada

Controle (tubos vazios):

- O grupo controle foi negativo para Von Kossa e granulações birrefringentes à luz polarizada foram ausentes, independente da presença da hipertensão arterial. (Figuras 3, 4 e 5).

MTA Angelus Branco®:

- A análise da birrefringência sob luz polarizada revelou a presença de partículas de carbonato de cálcio quando utilizado o MTA branco. Nos ratos normotensos, a área birrefringente era maior aos 30 dias do que aos 7 dias. Entretanto, em ratos hipertensos, as áreas foram similares em todo o período.

Partículas de cálcio são observadas pela coloração de Von Kossa como as áreas escuras (pretas) representando necrose tecidual. Uma diminuição da área de mineralização é observada em normotensos, enquanto que em hipertensos a área de mineralização foi maior aos 30 do que aos 7 dias. (figura 3).

No geral, as áreas de mineralização foram mais consistentes no grupo normotenso, tanto em 7 quanto em 30 dias. (Figuras 3, 4 e 5)

Figura 3. Média da área de mineralização associada com o MTA branco ou o tubo vazio (controle) aos 7 e 30 dias para os ratos hipertensos e normotensos, determinados pela coloração de Von Kossa e luz polarizada (n = 6 por grupo). *Áreas de birrefringência positiva ou coloração de Von Kossa (em μm^2). ¹Diferença estatisticamente significativa entre 7 e 30 dias para o MTA Branco na hipertensão, comparada com a normotensão. ²Diferença estatisticamente significativa entre o MTA Branco e o grupo controle.

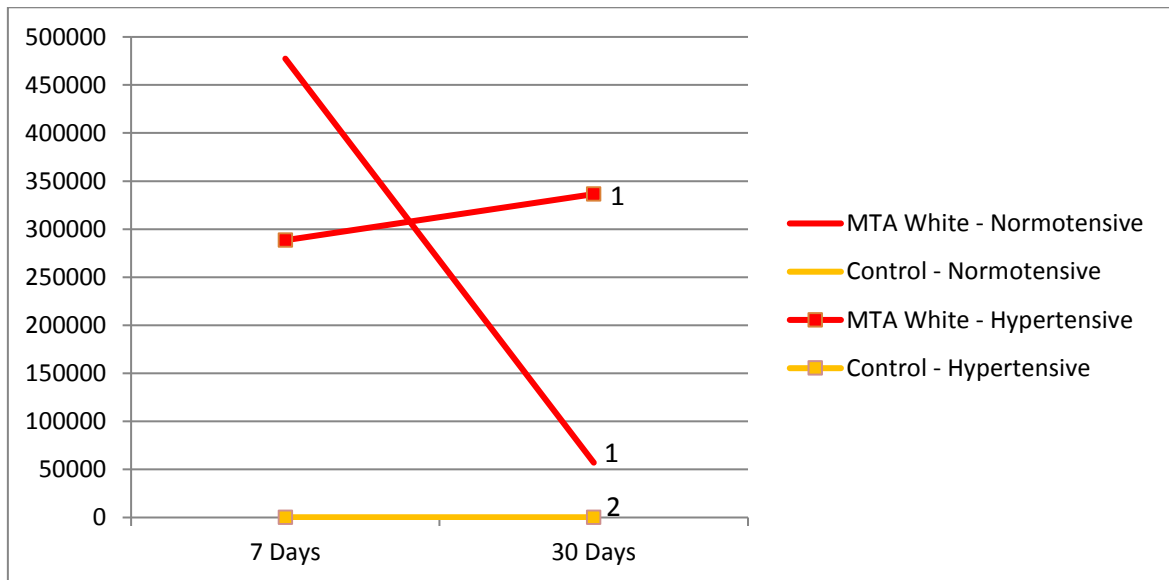
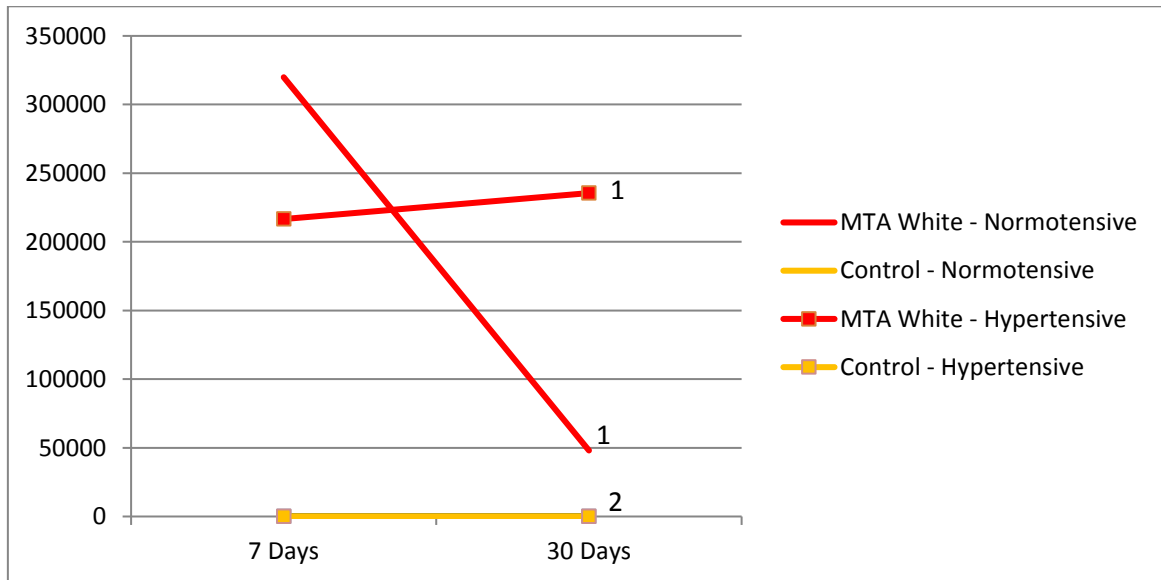


Figura 4. Mineralização em resposta do MTA branco ou ao tubo vazio (controle) aos 7 e 30 dias nas condições hipertensas e normotensas, determinada pela coloração de Von Kossa (100×). Áreas pretas representam mineralização. O MTA branco induziu mineralização. Mineralização mais consistente foi observada na condição normotensa, especialmente em 30 dias.

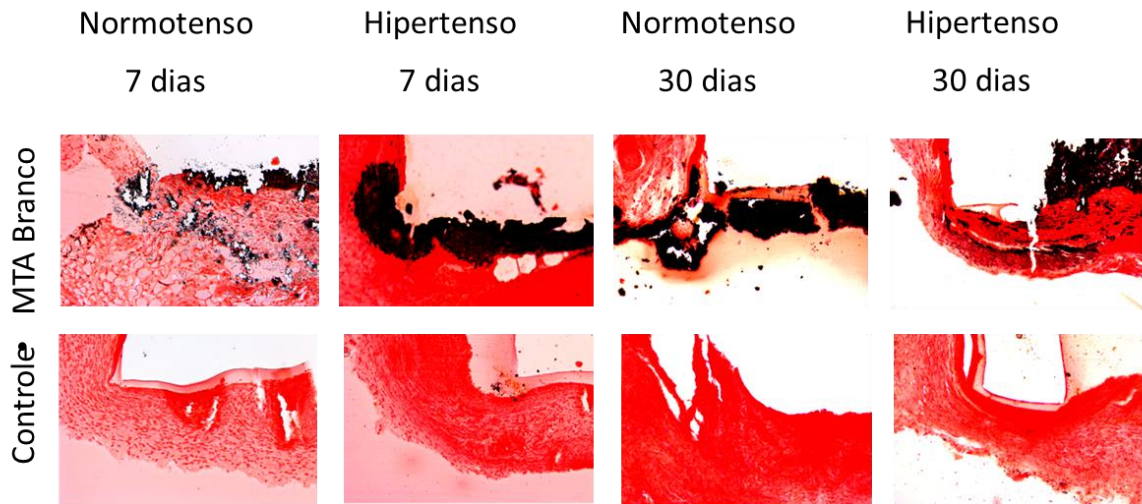
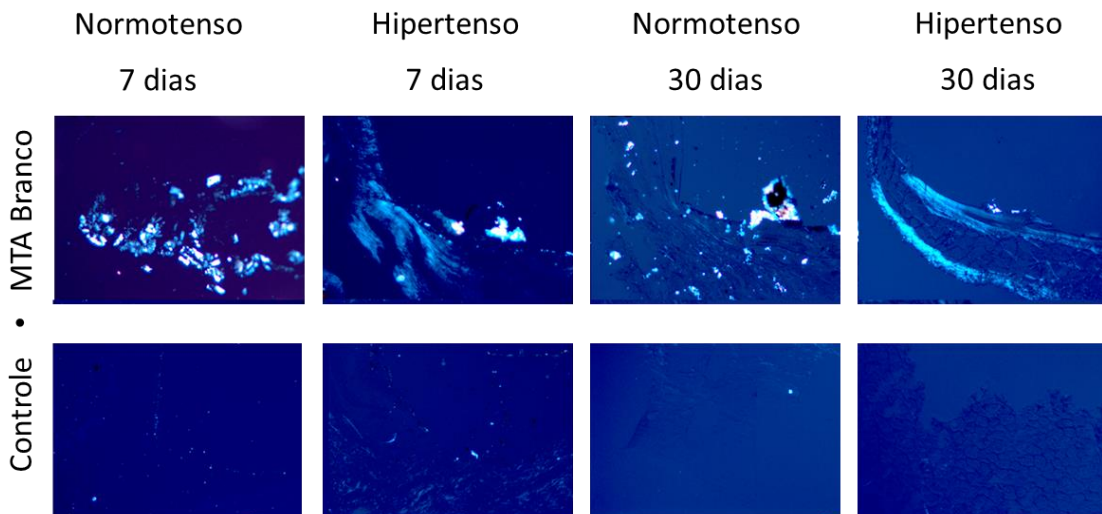


Figura 5. Mineralização em resposta do MTA branco ou ao tubo vazio (controle) aos 7 e 30 dias nas condições hipertensas e normotensas, determinada pela luz polarizada (100×). Estruturas birrefringentes no tecido representam cristais de cálcio, que pode ser observado o MTA branco. Birrefringência mais consistente foi observado nos ratos normotensos, especialmente aos 30 dias.



6 Discussão

Partindo do princípio que a hipertensão pode ser considerada uma doença inflamatória e que devido às consequências sistêmicas dessa doença há uma maior perda de cálcio por parte do organismo, foi proposta a hipótese que a hipertensão provoque um aumento da resposta inflamatória e uma diminuição da capacidade de mineralização frente ao MTA, e essa hipótese foi aceita.

De modo geral,, observou-se que a hipertensão aumentou a resposta inflamatória em resposta ao MTA branco. Tal fato foi evidenciado pelo aumento do número de células inflamatórias crônicas em hipertensos, em comparação aos ratos normotensos.

A mineralização foi avaliada por coloração de von Kossa e birrefringência sob luz polarizada. O primeiro é utilizado para detectar depósitos de cálcio e, conseqüentemente, área de mineralização⁴⁴. Por outro lado, a luz polarizada revela partículas de carbonato de cálcio birrefringentes no tecido⁴⁵.

A partir das análises da mineralização, pode-se observar que o estado hipertensivo leva a uma mineralização menos consistente. Esses dados encontrados são justificados pois, sistematicamente, a hipertensão leva a uma maior mobilização de cálcio a partir do osso e sua excreção pelos rins. A ativação secundária do hormônio da paratireóide leva a uma ativação da vitamina D que por sua vez estimula a quebra dos osteoclastos para liberar cálcio e aumenta a absorção de cálcio no intestino e aumenta a reabsorção deste cálcio nos rins. Além disso, pessoas hipertensas apresentam uma maior quantidade de angiotensina II⁴⁶⁻⁴⁹

No entanto, mesmo com a presença da hipertensão, a resposta positiva de mineralização para o MTA foi vista. O MTA é formulado com óxido de cálcio e fosfato de cálcio. O óxido de cálcio reage com água nos fluidos teciduais para formar hidróxido de cálcio , que se dissocia em íons de cálcio e hidroxila . Os íons de cálcio reagem com dióxido de carbono nos tecidos , para formar cristais de calcita, um polimorfo de carbonato de cálcio , que é birrefringente à luz polarizada . A calcita , por sua vez, estimula a deposição de tecido

duro⁴¹ . Estas atividades biológicas podem explicar a presença de áreas positivas de Von Kossa e estruturas birrefringentes.

6 Conclusão

Os resultados desse estudo mostram, com base nas metodologias empregadas, que a hipertensão arterial aumentou a resposta inflamatória e diminuiu a capacidade de mineralização do material MTA Ângelus® Branco, embora tenha mostrado uma capacidade de mineralização satisfatória nesta condição sistêmica. Confirmando que o MTA é uma adequada escolha entre os materiais disponíveis para ser utilizado em situações de hipertensão arterial.

Referências

1. CARRETERO, O.A; OPARIL, S. Essential hypertension: part I—definition and etiology. **Circulation**, v.101, n. 3, p. 329–335, Jan. 2000.
2. LESSA, I. Epidemiologia da hipertensão arterial sistêmica e da insuficiência cardíaca no Brasil. **Rev Bras Hipertens**, v. 8, n. 4, p. 383-392, Out/Nov 2001.
3. PASSOS, V.M.A; ASSIS, T.D; BARRETO, S.M. Hipertensão arterial no Brasil: estimativa de prevalência a partir de estudos de base populacional. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 15, n. 1, p. 35-45, Jan/Mar. 2006.
4. CHONBANIAN, A.V et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. **Hypertension**, v. 42, n. 6, p. 1206–1252, Dez. 2003.
5. PIERDOMENICO, S.D et al. Prognostic value of different indices of blood pressure variability in hypertensive patients. **Am J Hypertens**, , v. 22, n. 8, p. 842–847, Ago. 2009.
6. CAPPUCCIO, F.P. et al. High blood pressure and bone-mineral loss in elderly white women: a prospective study. Study of Osteoporotic Fractures. **Lancet**, v. 354, n. 9183, p. 971-975, Set.1999.
7. IZAWA, Y et al. Bone disorders in spontaneously hypertensive rat. **Calcif Tissue Int**, v. 37, n. 6, p. 605-657, Dez. 1985.
8. TSUDA, K; NISHIO, I; MASUYAMA, Y. Bone mineral density in women with essential hypertension. **Am J Hypertens.**, v. 14, n. 7, pt 1, p. 704-707, Jul. 2001.
9. ANGELI, F. et al. Association between periodontal disease and left ventricle mass in essential hypertension. **Hypertension**, v. 41, n. 3, p. 488-492, Mar. 2003.
10. HOLMLUND, A; HOLM, G; LIND, L. Severity of periodontal disease and number of remaining teeth are related to the prevalence of

- myocardial infarction and hypertension in a study based on 4,254 subjects. **J Periodontol.**, v. 77, n. 7, p.1173-1178, Jul. 2006.
11. LEITE, C.L. et al. Experimental-induced periodontitis is exacerbated in spontaneously hypertensive rats. **Clin Exp Hypertens**, v. 27, p. 523-531, 2005.
 12. ALSAADI, G et al. Impact of local and systemic factors on the incidence of late oral implant loss. **Clin Oral Implants Res.**, v 19, n. 7, p. 670-676, Jul. 2008.
 13. BASTOS, M.F. et al. Trabecular bone area and bone healing in spontaneously hypertensive rats. A histometric study. **Braz Oral Res**, v. 24, n. 2, p.170-176, Abril/Jun. 2010.
 14. BASTOS, M.F. et al Hypertension may affect tooth-suporting alveolar bone quality: a study in rats. **J Periodontol.**, v. 81, n. 7, p. 75-83, Jul 2010.
 15. MANRIQUE, N. et al. Alveolar bone healing process in spontaneously hypertensive rats (SHR), A radiographic densitometry study. **J Appl Oral Sci.**, v. 20, n. 2, p. 222-227, Mar/Abril 2012.
 16. MARTINHO, F.C. et al. Antigenic activity of bacterial endodontic contents from primary root canal infection with periapical lesions against macrophage in the release of interleukin-1beta and tumor necrosis factor alpha. **J Endod.**, v. 36, n. 9, p.1467-1474, Set 2010.
 17. RÔÇAS, I.N. et al.. Apical root canal microbiota as determined by reverse-capture checkerboard analysis of cryogenically ground root samples from teeth with apical periodontitis. **J Endod.**, v. 36, n. 10, p. 617-621, Out 2010.
 18. HOLLAND, R. et al. E Jr. A comparison of one versus two appointment endodontic therapy in dogs' teeth with apical periodontitis. **Journal of Endodontics.**, v. 29, n. 2, p.121-124, Fev 2003.
 19. KATEBZADEH, N; SIGURDSSON, A; TROPE, M. Radiographic evaluation of periapical healing after obturation of infected root canals: an in vivo study. **Journal of Endodontics.**, v. 33, n. 1, p. 60-66, Jan 2000.

20. KEREKES, K; TRONSTAD, L. Long-term results of endodontic treatment performed with a standardized technique. **Journal of Endodontics.**, v. 5, n. 3, p. 83-90, Mar 1979.
21. NAKAMURA, H. Success rate of endodontic treatment of teeth with vital and nonvital pulps. A meta-analysis. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 97, n. 1, p. 95-99, Jan 2004.
22. BERNADES, R.A. et al. Evaluation of the flow rate of 3 endodontic sealers: Sealer 26, AH Plus, and MTA Obtura. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.109, n.1, p. e47-e49, Jan 2010.
23. GOMES-FILHO, J.E. et al. Reaction of rat connective tissue to a new calcium hydroxide-based sealer. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.106, n. 2, p. e71-e76, Ago. 2008.
24. GOMES-FILHO, J.E. et al. A Mineral Trioxide Aggregate Sealer Stimulated Mineralization. **Journal of Endodontics**, v. 35, n. 2, p. 256-260, Fev 2009.
25. NASSRI, M.R.G; LIA, R.C.C; BOMBANA, A.C. Analise da resposta tecidual de dois cimentos endodônticos. **J Appl Oral Sci**, v.11, n.1, p. 9-14, Jan. 2003.
26. SCENZA, M.F.Z; SOARES, J; MACIEL, A.C.C. Avaliação de alguns cimentos endodônticos quanto a obstrução dos túbulos dentinários. **RPG Revista Pós Graduação**, v.12, n. 3, p. 330-335, 2005.
27. VALERA, M.C. et al. Avaliação da compatibilidade biológica do cimento Sealapex® e deste cimento acrescido de iodofórmio ou óxido de zinco. **Ciência Odontológica Brasileira**, v. 8, n.4, p. 29-38, Out./Dez. 2005.
28. VALERA, M.C. et al. Cimentos endodônticos: análise morfológica imediata e após seis meses utilizando microscopia de força atômica. **Pesquisa Odontol Bras**, v.14, n. 3, p. 199-204, Jul./Set. 2000.
29. ACCORINTE, M.L. et al. Evaluation of mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide cement as pulp-capping agents in human teeth. **Journal of Endodontics.**, v. 34, n. 1, p. 1-6, Jan 2008.

30. BERNABE, P.F. et al. Histological evaluation of MTA as a root-end filling material. **Journal of Endodontics**, v. 40, p. 758–765, 2007.
31. BORTOLUZZI E.A. et al. Sealing ability of MTA and radiopaque Portland cement with or without calcium chloride for root-end filling. **Journal of Endodontics**, v. 32, n. 9, p. 897–900, Set 2006.
32. BRAMANTE, C.M. et al. Presence of arsenic in different types and white and gray Portland cement. **Oral Surgery Oral Medical Oral Pathology Oral Radiology Endodontics**, v. 106, p. 909-913, 2008.
33. FELIPPE, W.T.; FELIPPE, M.C.S.; ROCHA, M.J.C. The effect of mineral trioxide aggregate on the apexification and periapical healing of teeth with incomplete root formation. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 1, p. 2–9, Jan 2006.
34. GOMES-FILHO, J.E. et al. Evaluation of Rat Alveolar Bone Response to Angelus MTA or Experimental Light-cured Mineral Trioxide Aggregate using Fluorochromes. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 2, p. 250-254, Fev 2011.
35. GOMES-FILHO, J.E. et al. Evaluation of the effects of endodontic materials on fibroblast viability and cytokine production. **Journal of Endodontics**, v. 35, n. 11, p. 1577-1579, Nov 2009.
36. LEE, S.J; MONSEF, M; TORABINEJAD, M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. **Journal of Endodontics**, v. 19, n. 11, p. 541-544, Nov 1993.
37. MENEZES, R. et al. Histologic evaluation of pulpotomies in dog using two types of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements as wound dressings. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 98, p. 376–379, 2004.
38. PINAR ERDEM, A; SEPET, E. Mineral trioxide aggregate for obturation of maxillary central incisors with necrotic pulp and open apices. **Dent Traumatol.**, v. 24, n. 5, p. e38–41, Jun 2008.
39. SARKAR, N.K. et al. Physicochemical basic of the biologic properties of mineral Trioxide aggregate. **Journal of Endodontics**, v. 31, n. 2, p. 97-100, Fev. 2005.

40. SCARPARO, R.K. et al. Mineral Trioxide Aggregate-based sealer: analysis of tissue reactions to a new endodontic material. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 7, p. 1174-78, Jul. 2010.
41. HOLLAND, R. et al. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. **J Endod.**, v. 25, n. 3, p.161-166, Mar. 1999.
42. FEDERATION DENTAIRE INTERNACIONAL. Recommended standart practices for biological evaluation of dental materials. Federation Dentaire International Commission on Dental Materials, Equipment, and Theropeutics. Part 4.11: Subcutaneous implantation test. **International Dental Journal**, v. 30, p.173-174, 1980.
43. GOMES-FILHO, J.E. et al. Glycol Methacrylate: An alternative method for embedding subcutaneous implants. **Journal of Endodontics.**, v. 27, n.4, p. 266-268, Abril 2001.
44. BILLS, C.E; EISENBERG, H; PALLANTE, S.L. Complexes of organic acids with calcium phosphate: the von Kossa stain as a clue to the composition of bone mineral. **Johns Hopkins Med J.**, v. 128, p. 194-207, 1971.
45. OLDENBOURG, R. Polarized light microscopy: principles and practice. **Cold Spring Harb Protoc.**, v. 2013, n. 11, Nov 2013
46. MCCARRON, D.A. et al. Enhanced parathyroid function in essential hypertension: a homeostatic response to a urinary calcium leak. **Hypertension.**, v. 2, n. 2, p.162-168, Mar/Abril 1980.
47. NAKAGAMI, H; MORISHITA, R. Hormones and osteoporosis update. Effect of angiotensin II on bone metabolism. **Clin Calcium.**, v. 19, n. 7, p.997-1002, Jul 2009.
48. OSHIMA, T; YOUNG, E.W. Systemic and cellular calcium metabolism and hypertension. **Semin Nephrol.**, v. 15, n. 6, p. 496-503, Nov 1995.
49. YOUNG, E.W; MCCARRON, D.A; MORRIS, C.D. Calcium regulating hormones in essential hypertension. Importance of gender. **Am J Hypertens.**, v. 3, n. 8, Pt 2, p. 161S-166S, Ago 1990.

Anexos

Trabalhos Apresentados - 2015

1. **VERNIER, L.S;** GOMES-FILHO, J.E; MARTINS, C.M; QUEIROZ, I.O.A; ERVOLINO, E. “INFLUÊNCIA DA HIPERTENSÃO ARTERIAL NA CAPACIDADE DE MINERALIZAÇÃO DO CIMENTO MTA ANGELUS BRANCO” (1ª fase do XXVII Congresso de Iniciação Científica da UNESP – 2015)

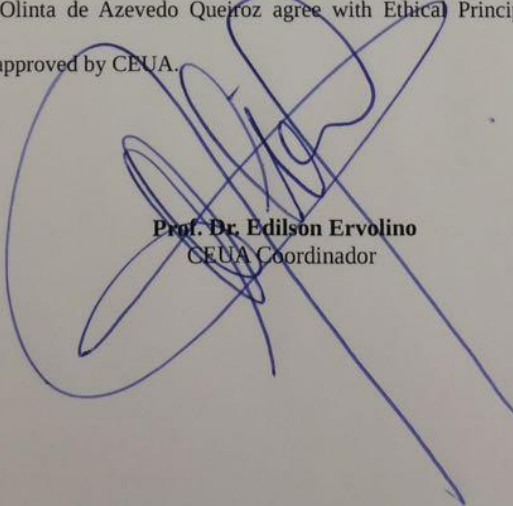
Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)
Committee for Ethical Use of Animals (CEUA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto **"Influência da hipertensão arterial na resposta tecidual e na capacidade de mineralização dos cimentos reparadores MTA Ângelus® branco e cinza e IRM®. Análise histológica e imunoistoquímica em ratos"** sob responsabilidade do Pesquisador **JOÃO EDUARDO GOMES FILHO** e colaboração de Christine Men Martins e Índia Olinta de Azevedo Queiroz está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo CEUA, de acordo com o protocolo **2013-00961**.

CERTIFICATE

We certify that the research **"Influence of hypertension on the tissue response and the ability of mineralization of cements repairers MTA Ângelus® white and gray and IRM®. Histological and immunohistochemistry analysis in rats"**, protocol number **2013-00961**, under responsibility of **JOÃO EDUARDO GOMES FILHO** and with collaboration of Christine Men Martins and Índia Olinta de Azevedo Queiroz agree with Ethical Principles in Animal Research (COBEA) and was approved by CEUA.


Prof. Dr. Edilson Ervolino
CEUA Coordenador