

Max Douglas Faria

Avaliação Qualitativa e Quantitativa da Resposta Tecidual Frente
aos Cimentos: MTA Ângelus Cinza e MTA Fotopolimerizável
Experimental. Análise Microscópica de Implantes Realizados em
Subcutâneos de Ratos

Araçatuba – 2006

Max Douglas Faria

Avaliação Qualitativa e Quantitativa da Resposta Tecidual Frente aos Cimentos: MTA Ângelus Cinza e MTA Fotopolimerizável Experimental. Análise Microscópica de Implantes Realizados em Subcutâneos de Ratos

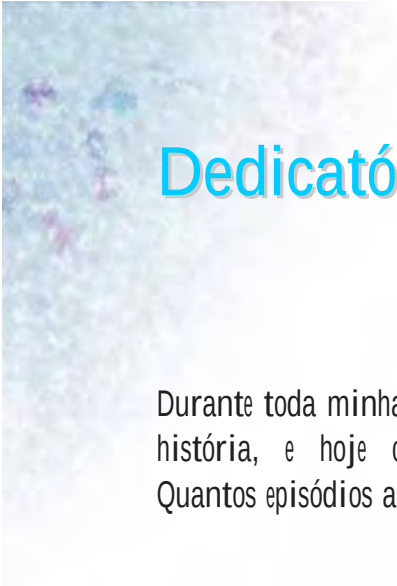
Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia do “Câmpus de Araçatuba – UNESP”, para a obtenção do grau de “MESTRE em Odontopediatria”.

Orientador: Prof.Dr. João Eduardo Gomes Filho

Araçatuba – SP
- 2006 -



Dedicatória



Dedicatória

Durante toda minha vida venho escrevendo minha história, e hoje concluo mais um capítulo. Quantos episódios a lembrar...

Lutei, sonhei, sorri e várias vezes chorei, conheci pessoas maravilhosas, amigos eternos, professores fascinantes. Foram estas pessoas que me fizeram felizes, e que sempre me ajudaram.

Mas foi através de dois seres humanos abençoados, sem os quais minha vida não tem sentido algum, que consegui este meu pequeno legado de vitórias, sonhos e conquistas, - Meus pais Getulio e Leonice. Guardo cada renúncia de vocês a meu favor, o amor inesgotável que sempre senti e preciso. A vocês dedico minha história e mais esta nossa conquista, eu os amo sempre.

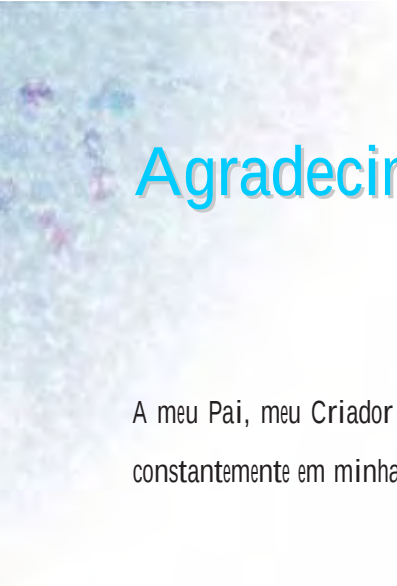
Obrigado.

Sinceramente...

Max Douglas Faria.



Agradecimentos Especiais



Agradecimentos Especiais

A meu Pai, meu Criador meu Deus, obrigado por sempre estar comigo, eu o amo demais, sinto sua presença constantemente em minha vida, vida que é sua, sou seu filho, obrigado por mais uma vitória.

Aos meus pais, Getulio e Leonice, exemplos de lutas, forças, honestidade e humildade. Sempre sacrificaram suas vidas pela minha formação moral e profissional. Obrigado!

Ao meu irmão Marcus, o qual sempre tive como exemplo por toda sua dedicação constante e história de vida. Obrigado!

A minha cunhada Queatrin obrigado por tudo... “Às minhas três princesas, Nara, Laura e Alice, presentes mais belos que Deus nos deu. Cada sorriso e gesto de vocês são um encontro sublime com Deus... Eu as amo!

A minha avó Maria, que sempre pediu a Deus por mim em suas orações...

A minha namorada Thaisa, a quem eu amo muito e foi decisiva neste momento de minha vida... Você é parte de mim... Amo-te!

Ao Professor João Eduardo Gomes Filho...

Grande Mestre. Grande amigo...

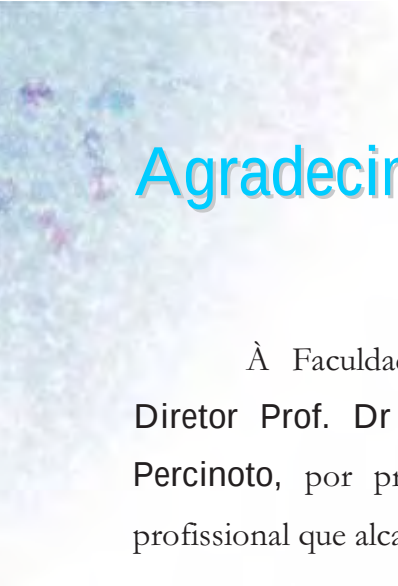
Grande Exemplo, humildade...

Professor, com você aprendi muito, não esqueço jamais seus ensinamentos, não apenas a minha vida profissional, mas para toda minha vida... Obrigado meu mestre, meu amigo...

Meus Agradecimentos.



Agradecimientos



Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP, nas pessoas do Diretor Prof. Dr Paulo Roberto Botacin e Vice-Diretor Prof Dr. Célio Percinoto, por proporcionar a realização desta pesquisa e pelo crescimento profissional que alcancei na realização do curso.

Aos professores da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP, Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem, Prof Dr. Célio Percinoto, Prof. Dr. Robson Frederico Cunha, Profa. Dra. Rosângela dos Santos Nery e Profa. Dra. Sandra Maria Herondina Coelho Ávila de Aguiar, que são exemplos de dedicação à docência, pela amizade, por todas as lições transmitidas e pela confiança em mim depositada.

As amigas da minha turma de mestrado, em Odontopediatria, Alessandra, Eliana Rodrigues, Eliana Takeshita, Thais e principalmente a minha grande amiga Janaina... Obrigado por toda amizade, não vou esquecê-las!

Aos alunos do atual programa de Mestrado em Odontopediatria, Vanessa, Adriana, Renata, Carolina e Gilberto, pelo bom relacionamento durante o curso.

Aos alunos do atual Programa de Doutorado em Odontopediatria, pela amizade que fizemos durante o curso.

A amiga Mariana Machado pelo carinho, amizade, paciência e pela ajuda constante durante meu trabalho de tese... Que Deus a abençoe. Obrigado!

A amiga Janaína Zavitoski Silva, pessoa brilhante de coração enorme, não vou esquecê-la jamais!

A amiga que tanto faz falta aqui em Araçatuba, **Daniela Pugliesi** pessoa super iluminada, competente, amiga. Obrigado!

Ao casal perfeito do ano: Meus amigos **Karina e Pedro Ivo**, amigos fundamentais em minha vida, não esqueço de cada gesto de amizade de vocês! Obrigado!

Às amigas **Fabiana Tanaka, Silvia Cinel, Thaisa Queiroz, Regina Amélia, Carolina Pedrassa, Tatyana Pereira, Vanessa Kido, Elaine Moreno, Andréa Costa e Sueli Satomi Murata**, pelo carinho, amizade e torcida pela conquista desta vitória. Obrigado!

A nossa mãezona, **Regina Maura...** Que sempre acompanhou nossas alegrias e tristezas, nos trazendo sempre sua alegria contagiante. Não vou esquecer lá jamais!

Aos funcionários e meus amigos da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba UNESP, **Mário Luis da Silva, Maria dos Santos Ferreira Fernandes, Maria Bertolina Mesquita de Oliveira**, pela dedicação, amizade e ajuda a mim dispensado.

A todos os funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP, **Ana Cláudia Grieger Manzatti, Cláudia de Souza Frare, Cláudia Hideo Matsumoto, Isabel Pereira de Matos, Ivone Rosa de Lima Munhoz, Izamar da Silva Freitas, Luiza Anderlini, Maria Cláudia de Castro Benez e Jéssica Duberger Neves**, pela atenção, paciência e eficiência com que sempre me atenderam.

Aos funcionários da Seção de Pós Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP, **Marina Midori Sakamoto Hawagoe, Valéria de Queiroz Marcondes Zagatto e Diogo** pelo excelente profissionalismo, atenção dispensada e ótimo relacionamento.

Aos professores da Disciplina de Endodontia do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Araçatuba **Dr. Pedro Felício Estrada Bernabé**, **Dr. Roberto Holland**, **Dr. Mauro Nery**, **Dr. Valdir de Souza**, **Dr. José Arlindo Otoboni** e **Dr. Eloi Dezan Junior**, pelo carinho e amizade durante o curso.

Às grandes profissionais **Hermelinda de Jesus Pereira Before**, **Neuza Angélica dos Santos** e **Neuci Vieira**, pelo capricho e cuidados com todo processo laboratorial, colocando em cada gesto uma porção de amor. Obrigado!

Aos Professores **Tetuo Okamoto** e **Roberta Okamoto**, pela ajuda constante, exemplos de humildade. Obrigado!

As minhas amigas de trabalho, professoras na disciplina de Odontopediatria, do Curso de Odontologia das Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul FUNEC, **Ana Elisa de Mello Vieira** e principalmente as amigas **Cíntia Megide** e **Ana Keila Bordon** vocês são exemplos de profissionais na docência. Obrigado pela força!

A Coordenadora do Curso de Odontologia das Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul FUNEC, **Professora Dra. Samira Âmbar Lins**, obrigado por acreditar em meu trabalho, me dando oportunidades ao meu crescimento profissional. Obrigado!

Aos Professores do Curso de Odontologia das Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul FUNEC, **Prof. Dr. Ariovaldo Martins**, **Profa. Dra. Ivana Maria Esteves Maciel**, **Prof. Dr. Takeu Ademar Furuse**, **Profa. Dra. Zuleice**, **Prof. Dr. Arnaldo Santana**, **Prof. Dr. Elerson Gaeti** e **Profa. Dra. Claudia**, por fazerem parte da minha vida acadêmica como meus professores e hoje como meus colegas de docência... Aprendi muito com todos vocês. Obrigado!

A todos meus colegas de trabalho da Disciplina de Estágio Extra Mural, do Curso de Odontologia das Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul, FUNEC Obrigado!

Aos funcionários das Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul, FUNEC pelo carinho e torcida!

E claro, aos meus alunos do 5º Ano de Odontologia das Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul-FUNEC, vocês são minhas grandes inspirações nas buscas de meus sonhos e minha realização como docente! Sucessos a vocês, Doutores!



Epígrafe

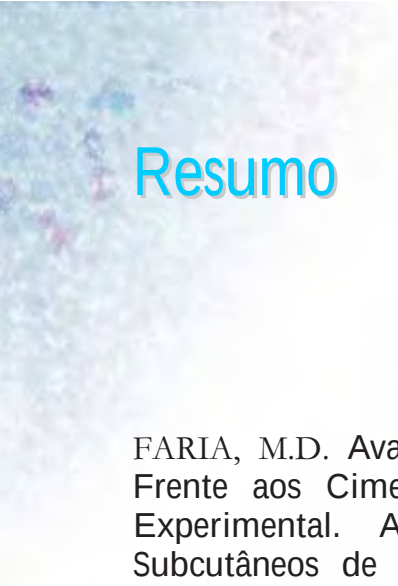


Epígrafe

"Quando nos comprometemos a realizar um sonho, a providência move-se também e faz surgir a nosso favor toda sorte de incidentes, encontros e assistência material que nenhum homem sonharia que viesse em sua direção. O que quer que você possa fazer ou sonhar que possa, faça-o. Coragem contém genialidade, poder e magia.

Comece agora."

Resumo



Resumo

FARIA, M.D. Avaliação Qualitativa e Quantitativa da Resposta Tecidual, Frente aos Cimentos: MTA Ângelus Cinza e MTA Fotopolimerizavel Experimental. Análise Microscópica de Implantes Realizados em Subcutâneos de Ratos. 2005. 31f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2006.

A necessidade de preservar a integridade do dente sucessor permanente, em formação, na vigência do tratamento endodôntico dos dentes decíduos, tem estimulado o estudo de vários tipos de cimentos endodônticos, dentre eles o MTA. Este trabalho teve a finalidade de avaliar quantitativamente e qualitativamente a resposta inflamatória frente ao implante de tubos de polietileno e de dentina em subcutâneo de ratos, contendo, o cimento experimental desenvolvido pela Northwestern University Medical School, de Chicago USA, em parceria com a empresa de materiais odontológicos Bisco comparando-o ao MTA Ângelus cinza. Foram utilizados 36 ratos, divididos em seis grupos. No grupo 1, tubos de polietileno vazios foram introduzidos no subcutâneo dos ratos para serviriam de controle para os grupos experimentais. No grupo 2 foram implantados tubos de polietileno contendo o cimento MTA Ângelus®. No grupo 3, tubos de polietileno contendo o cimento experimental fotopolimerizavel foram implantados. No grupo 4, tubos de dentina contendo MTA Ângelus® foram implantados. No grupo 5, tubos de dentina contendo o cimento experimental fotopolimerizavel foram implantados. No grupo 6 tubos de dentina vazios foram implantados. Após 30 e 60 dias os animais foram sacrificados e os tubos de polietileno juntamente com o tecido que o circundava foram removidos e processados para análise em microscopia de luz, com inclusão em parafina, cortes seriados de 6µm e coloração por HE. Os tubos de dentina foram removidos após 30 dias e processados para análise em microscopia de luz, com inclusão em cera de carnaúba, cortes seriados de 10µm e coloração de Van Kossa. Observou-se resultados mais favoráveis com MTA Ângelus®, pois o MTA experimental demonstrou resposta inflamatória de maior intensidade. Além disso, somente o MTA Ângelus® apresentou áreas positivas de calcificação com a coloração de Van Kossa. Concluiu-se que a reação tecidual ao MTA Ângelus® foi mais favorável à reparação, inclusive estimulando áreas de calcificação distrófica.

Palavras-chaves: Materiais endodônticos; MTA; Biocompatibilidade.



Abstract

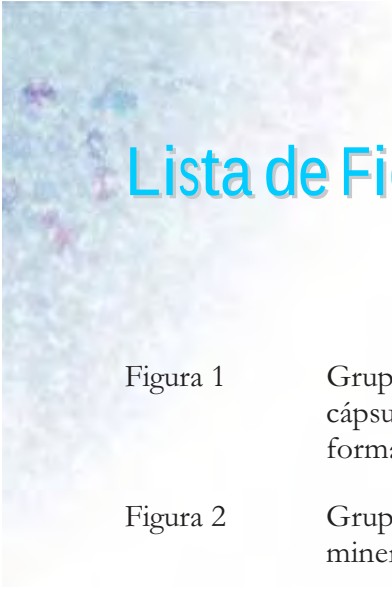


Abstract

FARIA, M.D. Quantitative and Qualitative Evaluation of Tissue Reaction to MTA Ângelus® Gray and Experimental Light Cured MTA. Microscopic Analysis of Rats Subcutaneous Implants . 2005. 31f. (Master Degree) Dissertation – Dentistry University, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2006.

The need of preserving the integrity of a permanent successor tooth, the development on the validity of deciduous endodontic tooth, has leading to the study of several kinds of endodontic materials, such as the MTA. This study means to evaluate quantitatively and the qualification of the inflammatory response to the polyethylene and dentine tubes implants on rat's subcutaneous, containing, the experimental cement developed by Northwestern University Medical School, in Chicago USA, in association to Bisco dental material company comparing it to MTA Ângelus® gray. It was used 36 rats, divided into six groups. In group 1, empty polyethylene tubes were implanted on rat's subcutaneous as control to the experimental groups. In group 2, it was implanted polyethylene tubes containing MTA Ângelus®. In the group 3, polyethylene tubes containing the experimental cement light cured. In the group 4, dentine tubes containing MTA Ângelus® were implanted. In the group 5, dentine tubes containing the experimental cement light cured were implanted. In the group 6, empty dentine tubes were implanted. After 30 to 60 days the animal were sacrificed and the implanted polyethylene tubes and surrounding tissue were removed and processed in laboratory to analyses on light microscopy, with embedding in paraffin, cut with 6µm thickness and stained with HE. The dentine tubes were removed at the same way 30 days after implantation and processed in laboratory to analyses on light microscopy, with embedding in carnauba wax, cut with 10µm thickness without demineralization and stained with Von Kossa. It was observed favorable results to MTA Ângelus® and experimental material showed higher levels on the inflammatory process. Besides, MTA Ângelus® was the only material to show positive area of mineralization with Von Kossa staining. It was possible to conclude that the tissue reaction to MTA Ângelus® was more favorable to the healing process including with dystrophic calcifications areas.

Key-words: Endodontic material; MTA, biocompatibility.



Lista de Figuras

Figura 1	Grupo 30 dias Controle – Observar pequena espessura da cápsula fibrosa, com poucas células inflamatórias crônicas de forma semelhante à cápsula da lateral do tubo (H. E, 40X).....	40
Figura 2	Grupo 30 dias Controle – Observar ausência de áreas de mineralização (Van Kossa, 25X).....	41
Figura 3	Grupo 30 dias MTA Ângelus® Cinza – Observar pequena espessura da cápsula fibrosa, com poucas células inflamatórias crônicas de forma semelhante à cápsula da lateral do tubo (H. E, 40X).....	42
Figura 4	Grupo 30 dias MTA Ângelus® Cinza – Observar presença de áreas de mineralização coradas em negro (Van Kossa, 25X).....	43
Figura 5	Grupo 30 dias MTA Experimental Fotopolimerizável – Observar maior espessura da cápsula fibrosa, com poucas células inflamatórias crônicas de forma semelhante à cápsula da lateral do tubo (H. E, 40X).....	44
Figura 6	Grupo 30 dias MTA Experimental Fotopolimerizável – Observar ausência de áreas de mineralização (Van Kossa, 25X).....	45
Figura 7	Grupo 60 dias Controle – Observar menor espessura da cápsula fibrosa quando comparado com o tempo de 30 dias, com poucas células inflamatórias crônicas de forma semelhante à cápsula da lateral do tubo (H. E, 40X).	46
Figura 8	Grupo 60 dias MTA Ângelus® Cinza – Observar menor espessura da cápsula fibrosa quando comparado ao tempo de 30 dias, com poucas células inflamatórias crônicas de forma semelhante à cápsula da lateral do tubo (H. E, 40X).	48
Figura 9	Grupo 60 dias MTA Experimental Fotopolimerizável – Observar menor espessura da cápsula fibrosa quando comparado ao tempo de 30 dias, contudo ainda maior que o MTA Ângelus® cinza e o controle e com poucas células inflamatórias crônicas de forma semelhante à cápsula da lateral do tubo (H. E, 40X).	49
Figura 10	Escores Médios do Tempo Experimental de 30 dias.....	50
Figura 11	Escores Médios do Tempo Experimental de 60 dias.....	51
Figura 12	Escores Médios de todos os Tempos Experimentais	52

Anexo 3

Figura 1.	Introdução do material MTA Ângelus Cinza com broca lentulo....	77
Figura 2.	Introdução do material MTA Fotopolimerizável	77
Figura 3.	MTA Ângelus Cinza.....	77
Figura 4.	MTA Fotopolimerizável experimental	77
Figura 5.	Fotopolimerização (40 segundos) do MTA Fotopolimerizável experimental.....	77
Figura 6.	Pontas descartáveis do MTA Fotopolimerizável experimental	77
Figura 7.	Tricotomia da região cirúrgica	78
Figura 8.	Antissepsia.....	78
Figura 9.	Incisão da área cirúrgica.....	78
Figura 10.	Introdução do tubo de dentina.....	78
Figura 11.	Introdução do tubo de polietileno	78
Figura 12.	Sutura.....	78

Lista de Tabelas

Tabela 1.	Divisão dos animais por 6 grupos.....	35
Tabela 2.	Escore utilizados na análise qualitativa	37
Tabela 3.	Escore Médios do Tempo Experimental de 30 dias.....	50
Tabela 4.	Escore Médios do Tempo Experimental de 60 dias.....	51
Tabela 5.	Escore Médios de todos os Tempos Experimentais	51

Anexo 2

Tabela 1.	Tabela de peso/dosagem utilizada pela disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba–UNESP - em Experimentação de animais para conduta anestésica.....	76
-----------	---	----

Sumário

1 Introdução	24
2 Proposição	28
3 Material e Método	30
Materiais Retrobturadores	31
Cimento Reparador MTA Ângelus	31
Cimento Experimental Fotopolimerizado	31
Tubos de Polietileno	32
Tubos de Dentina	32
Anestésico	33
Procedimentos Cirúrgicos	33
Grupos Experimentais	34
Obtenção das Peças	35
Processamento Laboratorial para Análise Histológica	35
Forma de Análise dos Resultados	36
Análise Qualitativa	36
Análise Quantitativa	37
Análise Estatística	37
4 Resultados	39
ANÁLISE QUALITATIVA	39
Grupo I – Controle – Tubo Vazio – 30 dias	39
Grupo II – Experimental – Tubo com MTA Ângelus® Cinza – 30 dias	41
Grupo III – Experimental – MTA Fotopolimerizável – 30 dias	43
Grupo I – Controle – Tubo Vazio – 60 dias	45
Grupo II – Experimental – Tubo com MTA Ângelus® Cinza – 60 dias	47
Grupo III – Experimental – MTA Fotopolimerizável – 60 dias	48
ANÁLISE QUANTITATIVA	50
5 Discussão	54
Da Metodologia Empregada	54
Dos Materiais	56
Dos Resultados Obtidos	60
6 Conclusão	66
Referências	68
Anexo 1 – Comissão de Ética	75
Anexo 2 – Anestésicos para ratos	76
Anexo 3– Preparação do Material e Procedimentos Cirúrgicos	77
Anexo 4 – Escores utilizados na análise quantitativa	79
Anexo 5– Normas para publicação	82

The background of the page is an abstract composition. It features several overlapping squares in shades of light blue, lavender, and pale yellow. Overlaid on these squares is a faint, repeating pattern of small, stylized flowers in various colors, including purple, blue, and pink. The overall effect is a soft, textured, and layered visual.

Introdução



1 Introdução

Com o passar dos anos o avanço técnico e científico tem proporcionado a odontologia novas técnicas, instrumentos, aparelhos e formas de tratamento, visando sempre à facilidade de trabalho ao cirurgião dentista, bem como a manutenção ou restabelecimento de integridade do paciente.

A manutenção dos dentes decíduos em condições anatômicas e funcionais, até a época da esfoliação, é um dos mais importantes objetivos na clínica odontopediátrica (1). A Odontopediatria visa na criança, a preservação de espaço, a estética, a mastigação, e a prevenção de hábitos bucais. Já a terapia endodôntica em dentes decíduos, tem sido sugerida desde 1932 como um método para a manutenção dos dentes decíduos.

Em 1992, KUBOTA, GONDEN, PENUGOND (2) já observavam certa relutância entre os odontopediatras em realizar a terapia endodôntica, a exemplo: a falta de manejo da criança, a dificuldade de obtenção de uma radiografia de qualidade visualizando os ápices radiculares, a morfologia radicular alterada pelo processo de reabsorção e a dificuldade de encontrar materiais obturadores compatíveis com o processo de rizólise.

Um material obturador ideal em endodontia dos dentes decíduos deve apresentar as seguintes qualidades: Ser compatível com os tecidos periapicais, reabsorvível, bactericida e que proporcione um bom selamento (3,4). Dentre todas

* Normalização segundo a Journal of Endodontics (Anexo 5)

as qualidades mencionadas a resposta tecidual estimulada pelo material é fundamental, pois estabelece um íntimo contato com os tédios e muitas vezes a extravasa para a intimidade dos tecidos (2,5) correndo o risco, inclusive, de afetar algumas estruturas do germe do dente permanente.

A propriedade de ser um material reabsorvível é importante, pois a velocidade de reabsorção deve ser compatível á evolução da rizólise (6,7). Já a propriedade bactericida também deve ser considerada com certa importância, pois a maioria dos tratamentos endodônticos em odontopediatria envolve polpas necróticas e infectadas.

Um dos materiais que vem sendo estudado há alguns anos, é o cimento reparador MTA (Agregado de Trióxidos Minerais). Este material surgiu no começo dos anos 90, como um material experimental desenvolvido na Universidade de Loma Linda-Califórnia, Estados Unidos pelo Professor Mahmoud Torabinejad e sua equipe (8).

Este material foi desenvolvido para ser utilizado como material selador de comunicações entre dente e o periodonto. A partir desta descoberta, inúmeros trabalhos foram realizados, comprovando sua efetividade, fazendo com que o novo material fosse aceito internacionalmente.

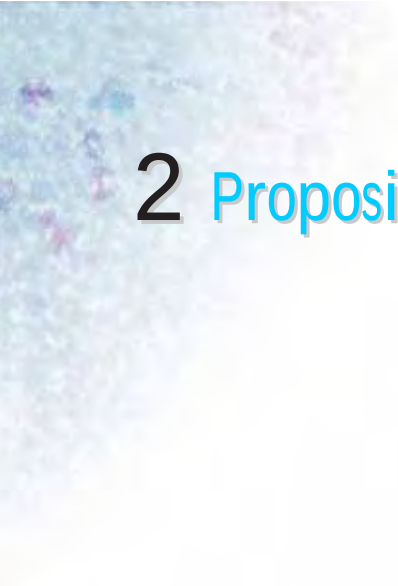
O MTA tem sido indicado em diversas situações clínicas devido a apreciáveis propriedades físico-químicas e biológicas. Por ser um material biocompatível, indutor de dentinogênese, cementogênese e osteogênese, hidrofílico, radiopaco, por possuir ação antimicrobiana e promover selamento marginal adequado prevenindo infiltrações, o MTA tem sido empregado com sucesso em pulpotomias,

capeamentos pulpaes diretos, apicificações e apicigênese (9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20).

O MTA encontra-se atualmente disponível no mercado odontológico sob os nomes comerciais de MTA ProRoot® (Dentsply) e MTA-Angelus® (Angelus). Ambos com características físico-químicas e biológicas semelhantes (21). Mas foi no ano de 2004, que chegou até o departamento de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba Unesp, uma nova fórmula de MTA desenvolvida pela Northwestern University Medical School, de Chicago USA, em parceria com a empresa de materiais odontológicos Bisco.

Este cimento experimental apresenta-se em pequenos tubos plásticos, com pontas de alumínio descartáveis, e de fácil aplicação. Tem como grande diferencial a fórmula resinosa que permite a fotopolimerização e consequentemente a presa imediata. Por ser um material experimental recente, nenhuma pesquisa sobre suas propriedades físico-químicas ou biológicas foram realizadas. Assim teve-se como objetivo deste estudo a avaliação de sua biocompatibilidade, comparando-a ao MTA Ângelus® cinza.

Proposição

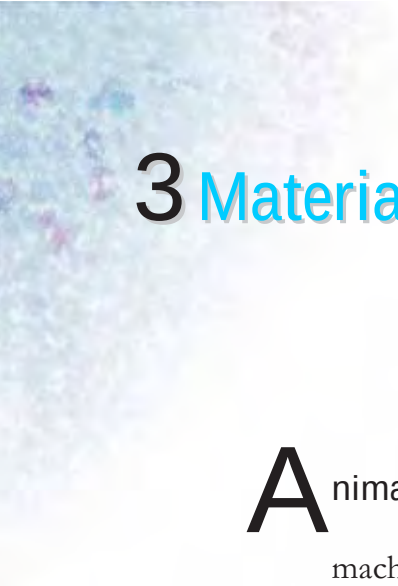


2 Proposição

Avaliar qualitativa e quantitativa, a resposta tecidual do tecido subcutâneo de ratos ao MTA fotopolimerizável experimental, em relação ao MTA Ângelus® cinza. Análise microscópica de implantes em subcutâneos de ratos.

The background of the page is an abstract composition. It features several overlapping squares in shades of light blue, lavender, and pale yellow. Overlaid on these squares is a faint, repeating pattern of small, stylized flowers in various colors, including purple, blue, and pink. The overall effect is a soft, textured, and layered visual.

Material e Método



3 Material e Método

Animaís: Para a realização deste trabalho, foram utilizados 36 ratos machos (Wistar), com idades aproximadas de 90 dias, pesando aproximadamente 350g, sendo provenientes do biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba UNESP.

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

No interior das gaiolas havia cama de serragem, a qual foi trocada diariamente. Esses 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.

Previamente ao início do experimento, o projeto de pesquisa foi submetido à apreciação do comitê de ética no ensino e pesquisa em animal (CEEPA – Processo nº 71/05) aprovado em 16/06/2005 (ANEXO 1).

Materiais Experimentais

Foram empregados os cimentos reparadores MTA Ângelus®¹ cinza, da marca Ângelus Soluções Odontológicas, e o experimental da empresa Bisco – Chicago – USA².

Cimento Reparador MTA Ângelus

O cimento MTA Ângelus apresenta embalagem composta por um frasco contendo 1 grama de pó e 1 frasco contendo 3 ml de água destilada, além de uma espátula para manipulação.

A sua fórmula apresenta a seguinte composição: SiO₂, K₂O, Al₂O₃, Na₂O, Fe₂O₃, SO₃, CaO, Bi₂O₃, MgO e resíduos insolúveis (sílica cristalina, óxido de cálcio e sulfato de potássio e sódio).

Cimento Experimental Fotopolimerizável

O cimento experimental resinoso, desenvolvido pela Northwestern University Medical School, de Chicago USA, através da empresa de materiais odontológicos Bisco, apresenta embalagens no formato de seringas contendo uma pasta resinosa ativada por luz alógena (fotopolimerizador³ 40 segundos), sendo aplicado com finas pontas descartáveis de alumínio.

COMPONENTES: Por motivos de Patente, as informações quanto à composição do material não foram cedidas.

¹ Ângelus Indústria de Produtos Odontológicas – LTDA, Londrina-PR-Brasil.

² Bisco, Schaumburg – USA.

³ Ultra Lux Eletronic Dabi Atlante, Ribeirão Preto – Brasil.

Tubos de Polietileno

Foram utilizados 48 tubos de polietileno com 1,0 mm de diâmetro interno e 1,6 mm de diâmetro externo e 10,0mm de comprimento, os quais foram esterelizados em autoclave. Uma extremidade de cada tubo foi selada com guta percha⁴, aquecida numa extensão de 1 mm. Os materiais depois de manipulados segundo as normas dos fabricantes, foram introduzidos, na outra extremidade do tubo de polietileno⁵, preenchendo os 9,00 mm restantes e ficando rente a superfície externa, exceto no grupo de controle onde a extensão correspondente ao material retrobturador permaneceu vazia. Os tubos foram esterilizados em óxido de etileno previamente a implantação. A guta percha empregada neste procedimento teve o propósito de vedar uma das extremidades do tubo com o objetivo de diminuir o escoamento dos materiais no momento da introdução do tubo.

Tubos de Dentina

Foram utilizados 24 tubos de dentina preparados a partir de raízes de dentes humanos. As raízes foram seccionadas na altura da embocadura dos canais. O canal das raízes foi preparado com Gates-Glidden #2 em toda a sua extensão utilizando irrigação com hipoclorito de sódio 1%. As raízes foram desgastadas externamente com broca Endo-Z para formar um tubo com espessura uniforme ao redor de 1,0mm. Em seguida os tubos ficaram imersos em EDTA 17% por 3 minutos, lavados com soro fisiológico e autoclavados. Os tubos de dentina foram completamente preenchidos pelos materiais a serem avaliados.

⁴Hygenic – DFL, Akron, OH – USA.

⁵Abbott. Lab. do Brasil, São Paulo – SP.

Anestésico

Foram empregados como sedativos, Dopaser⁶, a base de xilazina (relaxante muscular, analgésico e sedativo) na dosagem de 10mg/Kg de peso corporal e como anestésico o Vertanacol⁷, a base de cloridrato de ketamina a 5% na dosagem de 25mg/Kg de peso corporal.

A conduta anestésica seguiu a tabela peso/dosagem utilizada pela disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba–UNESP - em Experimentação de animais (ANEXO 2).

Procedimentos Cirúrgicos

- A) Para a realização das intervenções cirúrgicas, os animais foram inicialmente pesados, e então sedados com injeção intramuscular de Dopaser, e em seguida anestesiado com Vertanacol. O período de trabalho com cada animal não ultrapassou 5 minutos e, desta maneira, não houve necessidade de complementação.
- B) Após a anestesia, fez-se a tricotomia da região dorsal e a lavagem da área com a finalidade de se evitar contaminação do campo cirúrgico pela presença de pêlos. Antissepsia da área desprovida de pêlos, foi efetuada esfregando, por dois minutos com gaze em solução aquosa 10% de PVPI⁸. Em seguida, iniciou-se o procedimento cirúrgico, fazendo-se uma incisão com lâmina de bisturi número

⁶Laboratórios Calier AS, Barcelona - Espanha.

⁷Fort Dodge, Iowa – EUA.

⁸Áster Produtos Médicos, Sorocaba – Brasil.

15º, no dorso do animal, (tendo a coluna vertebral como linha média de marcação). Após a divulsão do tecido subcutâneo para o lado esquerdo e direito um tubo com material foi introduzido de cada lado com o auxílio de pinça reta, de tal forma que os animais receberam dois tubos com o mesmo material. O tecido foi suturado com fio de seda (4,0)¹⁰ não reabsorvível e antiseptia final, foi realizada com PVPI 10%.

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

Grupos Experimentais

De acordo com os materiais empregados e tempos pós-operatórios os 36 ratos foram divididos em 5 grupos, sendo 4 grupos experimentais e 1 grupo controle. Cada grupo experimental foi composto de 5 animais para cada tempo pós-operatório (30 e 60 dias). O tempo para avaliação dos materiais em implantes de tubos de dentina foi de 30 dias somente. Já os grupos de controle foram compostos por 4 animais, sendo 2 para cada período, distribuídos conforme a tabela 1:

⁹Shangai-Med. Sn, Shangai – China.

¹⁰Ethicon Inc., San Ângelo – EUA.

Tabela 1. Divisão dos animais por 6 grupos.

Grupos	Materiais	Tubo	30 dias	60 dias
1 - Controle	Vazio	Polietileno	2	2
2 - Experimental	MTA-Angelus	Polietileno	5	5
3 - Experimental	Fotopolimerizavel	Polietileno	5	5
4 - Experimental	MTA-Angelus	Dentina	5	
5 - Experimental	Fotopolimerizavel	Dentina	5	
6 - Controle	Vazio	Dentina	2	

Obtenção das Peças

Os animais foram sacrificados de acordo com o tempo experimental, por meio de uma dose excessiva de anestésico (cloridrato de ketamina¹¹). Após o sacrifício, foi realizada novamente uma tricotomia da região dorsal, e anti-sepsia da área com PVPI 10%. Logo após, realizou-se 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 envolviam.

Processamento Laboratorial para Análise Histológica

As peças foram colocadas imediatamente em frascos individuais devidamente identificados, contendo solução de formalina a 10%¹², tamponada com pH neutro, durante as primeiras 48 horas e lavadas em água corrente por 5 horas, para remoção da solução de fixação. Os tubos de polietileno foram retirados e as peças processadas de acordo com a técnica de rotina para inclusão em parafina e cortadas longitudinalmente na espessura de 6µm e corados por hematoxilina e eosina (HE).

¹¹Fort Dodge, Iowa – EUA.

¹²Vetec Química Fina LTDA, Rio de Janeiro - Brasil.

Já o processamento histológico dos tecidos contendo tubos de dentina preenchidos pelos materiais seguiu a rotina para inclusão em mistura de cera de carnaúba (95%) e parafina (5%), sem serem desmineralizados para que se pudesse utilizar a coloração de Van Kossa para cálcio. As peças foram cortadas longitudinalmente em micrótomo de tecido duro (Leica, Germany) na espessura de 10µm.

Forma de Análise dos Resultados

A análise microscópica foi realizada com auxílio de um microscópio binocular¹³ e os resultados foram expostos por meio de duas análises, sendo uma qualitativa e a outra quantitativa, referente a cada grupo e tempo pós-operatório.

Análise Qualitativa

A análise microscópica qualitativa do processo inflamatório da reação tecidual aos materiais retrobturadores consistiu na descrição dos fenômenos observados em cada grupo e tempos pós-operatórios. Para melhor desenvolvimento desta análise foi elaborada uma tabela onde foram registrados os principais fenômenos presentes. (ANEXO 4)

Todos os fenômenos observados foram marcados com um X nos locais correspondentes ao item avaliado.

¹³Olympus Corporation Ina Plant, Ina - Japan.

Análise Quantitativa

A análise quantitativa foi realizada por meio da atribuição de escores, graduando a importância dos fenômenos microscópicos observados. A avaliação se deu sob a forma de escores de 1 a 3, possibilitando dessa maneira, dados para uma análise estatística posterior. Além disso, com o objetivo de avaliar a presença de mineralização de cada material analisado, as lâminas avaliadas pelos escores sim (presença) ou não (não presença de mineralização). (22,23,24) (Tabela 2)

Tabela 2. Escores utilizados na análise quantitativa

Escore	Definição
1- Leve	inferior a 10 células; cápsula sem diferenciação da lateral; de 1 a 5 vasos sanguíneos na embocadura.
2- Moderado	entre 10 e 25 células; cápsula ligeiramente mais espessa que a lateral; de 6 a 10 vasos sanguíneos na embocadura.
3- Severo	superior a 25 células; cápsula significativamente mais espessa que a lateral (desorganização do tecido); mais que 10 vasos sanguíneos na embocadura.
Mineralização	o critério de avaliação para a mineralização, foi avaliado em cada lamina, e observado apenas a presença ou não presença, deste processo a ser avaliado.

Análise Estatística

A avaliação microscópica dos cortes teciduais mais representativos de cada grupo e tempo pós-operatório foi realizada por dois observadores e os dados encontrados foram submetidos à análise estatística pelo programa Prisma 3.0, utilizando teste Tuckey ao nível de significância de 0,01%.

Resultado



4 Resultado

ANÁLISE QUALITATIVA

Grupo I – Controle – Tubo Vazio – 30 dias

Ao fazer a análise dos cortes histológicos, foi observada junto à abertura do tubo uma pequena extensão do infiltrado inflamatório, no valor de até $150\mu\text{m}$. Observou-se também a intensidade de células inflamatórias, tendo presença moderada de macrófagos, linfócitos e alguns fibroblastos jovens. Neste grupo, foi constatado apenas a presença de áreas de infiltrado inflamatório crônico, tendo moderado aparecimento de células gigantes, de 4 a 6 células em cada corte. Em relação aos tipos celulares encontrados, foram observados principalmente, macrófagos, linfócitos e células gigantes multinucleadas. Com relação à disposição dos macrófagos em cada corte histológico foi observada a distribuição periférica em todas as espécies. Quanto a presença de células gigantes multinucleadas observou-se, em todas as espécimes, distribuição periférica.

Na embocadura do tubo analisado, a cápsula fibrosa apresentou a espessura ao redor de $20\mu\text{m}$, com aproximadamente 125 células, sendo a maior parte constituída de fibroblastos. Todos os fibroblastos analisados, pelas suas características morfológicas foram considerados velhos. Pela análise da cápsula fibrosa lateral, observou-se células inflamatórias dentre elas macrófagos e células

gigantes multinucleadas. Houve também a presença de fibroblastos velhos, de forma semelhante à embocadura.

Quando se avaliou a reação do tecido subcutâneo aos tubos de dentina sem preenchimento, não se notou a presença de áreas Von Kossa positivas para cálcio, evidenciando que não se estimula a mineralização com a implantação de tubos de dentina em tecido subcutâneo de ratos.

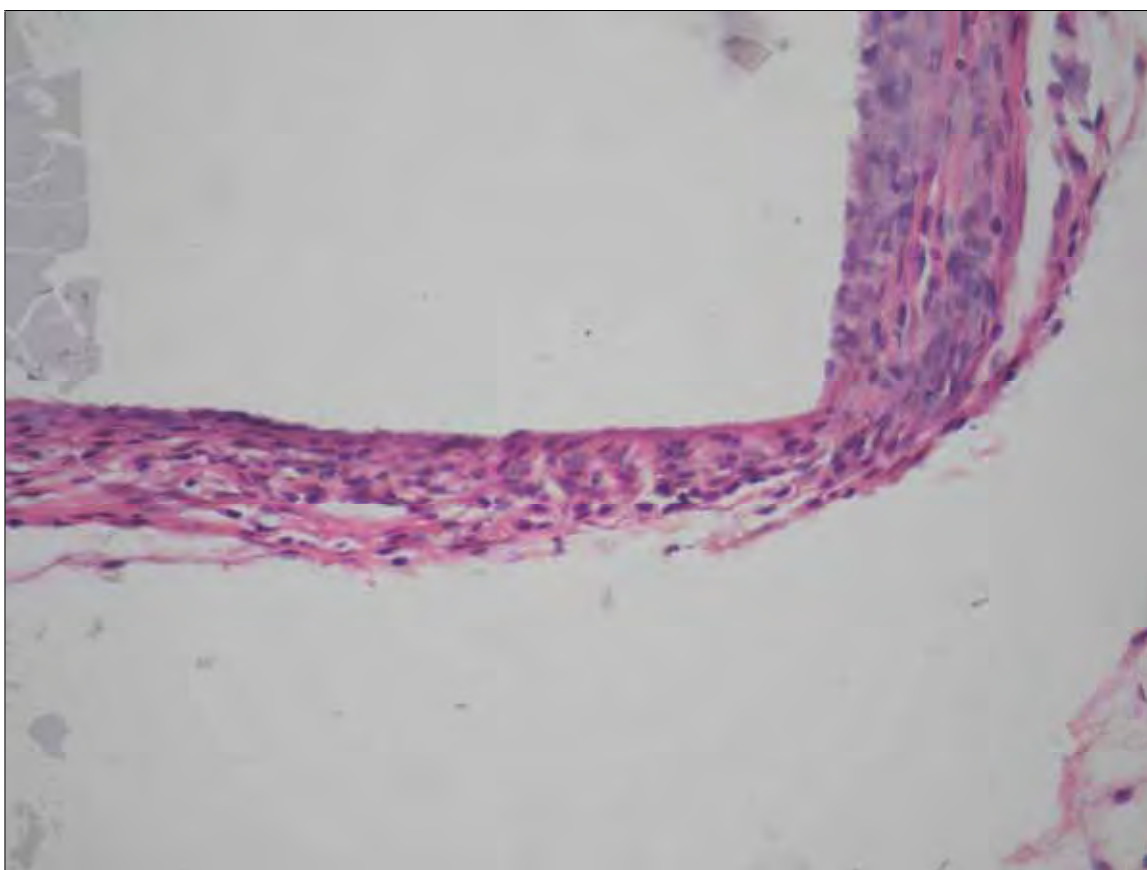


Figura 1. Grupo 30 dias Controle – Observar pequena espessura da cápsula fibrosa, com poucas células inflamatórias crônicas de forma semelhante à cápsula da lateral do tubo (H. E, 40X).

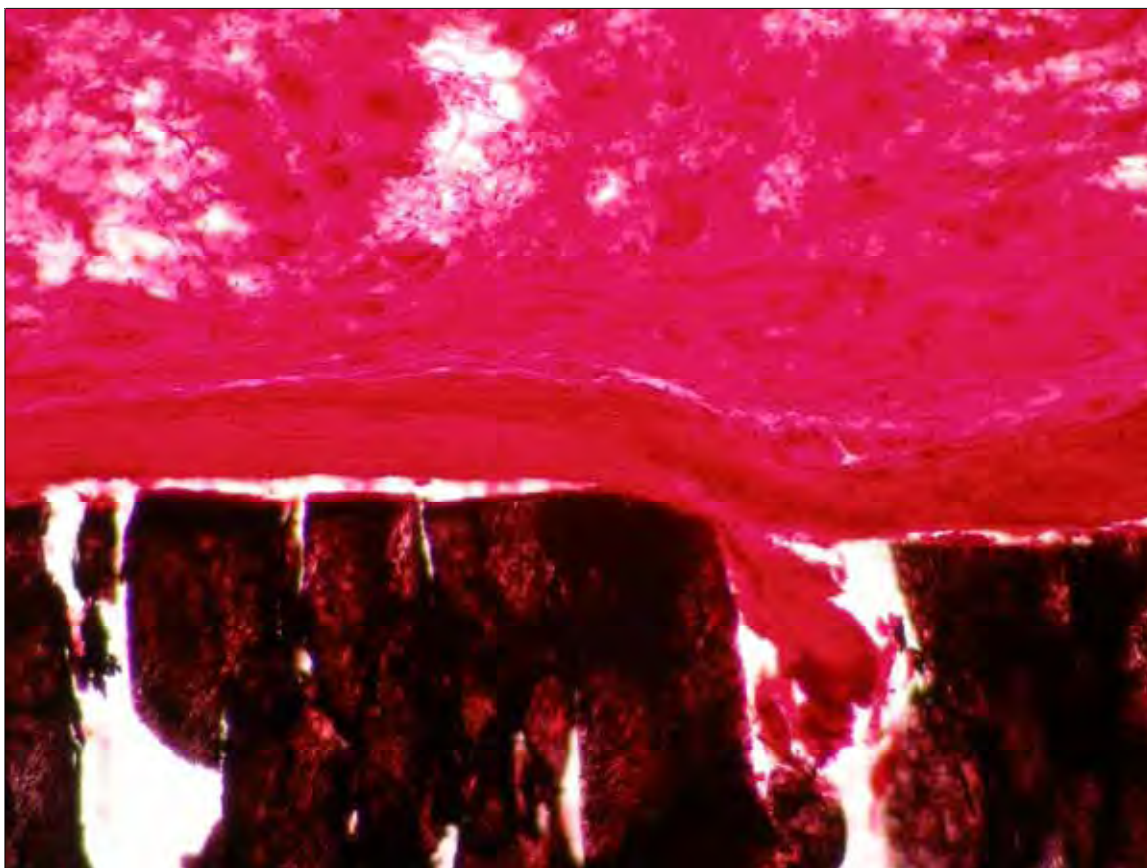


Figura 2. Grupo 30 dias Controle – Observar ausência de áreas de mineralização (Van Kossa, 25X).

Grupo II – Experimental – Tubo com MTA Ângelus® Cinza – 30 dias

Neste grupo, foi observada junto à abertura do tubo uma pequena extensão do infiltrado inflamatório, de até $150\mu\text{m}$. Observou-se também a intensidade de células inflamatórias, tendo presença leve de macrófagos, linfócitos e alguns fibroblastos jovens. Foi constatado apenas a presença de inflamação crônica, tendo discreto aparecimento de células gigantes, de 1 a 3 células em cada corte, e de 1 a 5 vasos sanguíneos presentes até na abertura do tubo, chegando a uma extensão de vascularização de $20\mu\text{m}$.

Na embocadura do tubo analisado, a cápsula fibrosa apresentou a espessura ao redor de $20\mu\text{m}$, com mais de 150 células, na maioria fibroblastos velhos. Na

cápsula fibrosa lateral, observou-se 150 células inflamatórias crônicas, dentre elas macrófagos e células gigantes multinucleadas, a também a presença de fibroblastos velhos, ao redor de 150 células, de forma semelhante à embocadura.

Quando se avaliou a reação do tecido subcutâneo aos tubos de dentina preenchidos com MTA Ângelus® cinza, observou-se em todos os espécimes a presença de áreas Von Kossa positivas para cálcio, evidenciando a estimulação à mineralização promovida pelo material.

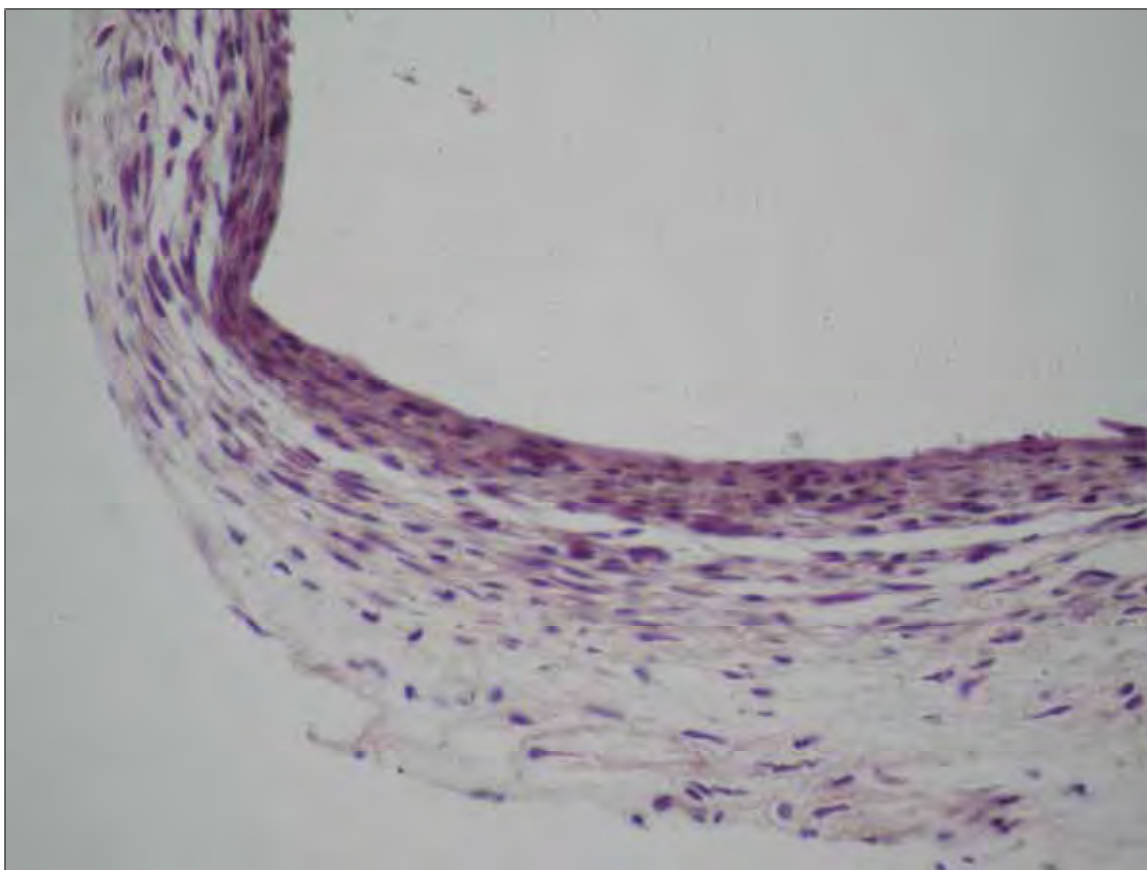


Figura 3. Grupo 30 dias MTA Ângelus® Cinza – Observar pequena espessura da cápsula fibrosa, com poucas células inflamatórias crônicas de forma semelhante à cápsula da lateral do tubo (H. E., 40X).

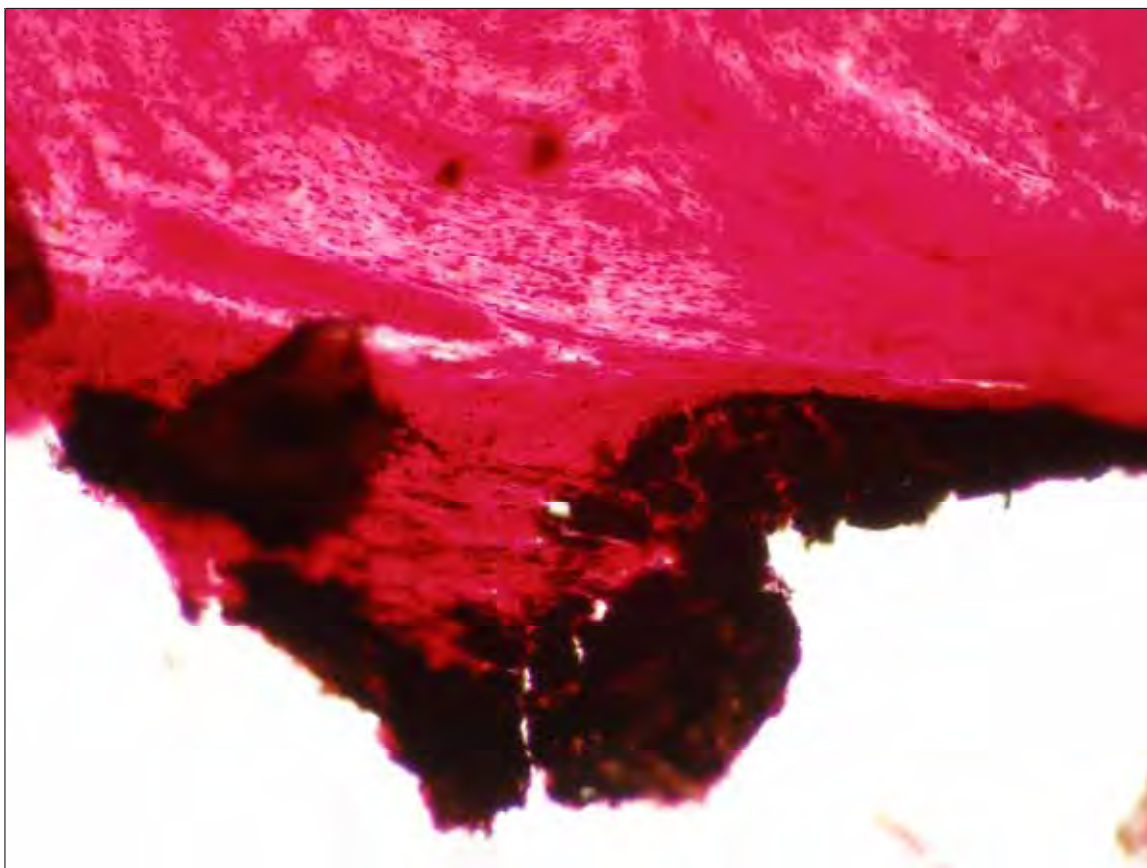


Figura 4. Grupo 30 dias MTA Ângelus® Cinza – Observar presença de áreas de mineralização coradas em negro (Van Kossa, 25X).

Grupo III – Experimental – MTA Fotopolimerizável – 30 dias

Pela análise dos cortes histológicos, observou-se junto à abertura do tubo uma pequena extensão do infiltrado inflamatório, ao redor de mais de 150 μ m. Observou se também a intensidade de células inflamatórias, tendo presença moderada de macrófagos, linfócitos e alguns fibroblastos jovens. Neste grupo, foi constatado apenas a presença de inflamação crônica, tendo também aparecimento de células gigantes em número superior a 6 células em cada corte, e mais de 10 vasos sanguíneos presentes até a abertura do tubo, chegando a uma extensão de vascularização ao redor de 150 μ m.

Na embocadura do tubo analisado, a cápsula fibrosa apresentou a espessura ao redor de mais de 150 μ m. Com relação ao aparecimento de fibroblastos na área de embocadura houve presença de mais de 125 células, a maioria fibroblastos velhos. Na cápsula fibrosa lateral, observou-se poucas células inflamatórias e uma espessura menor que a embocadura, menos de 150 μ m.

Quando se avaliou a reação do tecido subcutâneo aos tubos de dentina preenchidos por MTA fotopolimerizável experimental, não se notou a presença de áreas Von Kossa positivas para cálcio, evidenciando que o material não estimula a mineralização.

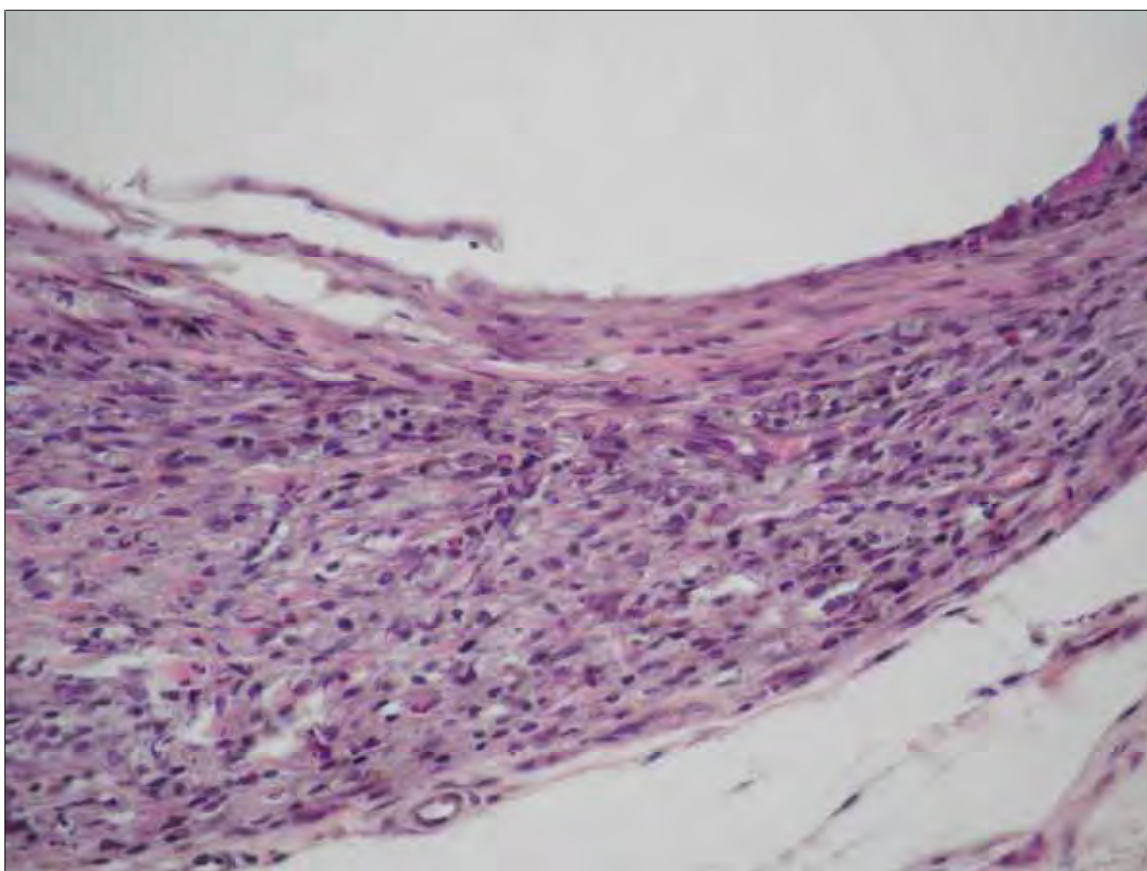


Figura 5. Grupo 30 dias MTA Experimental Fotopolimerizável – Observar maior espessura da cápsula fibrosa, com poucas células inflamatórias crônicas de forma semelhante à cápsula da lateral do tubo (H. E, 40X).

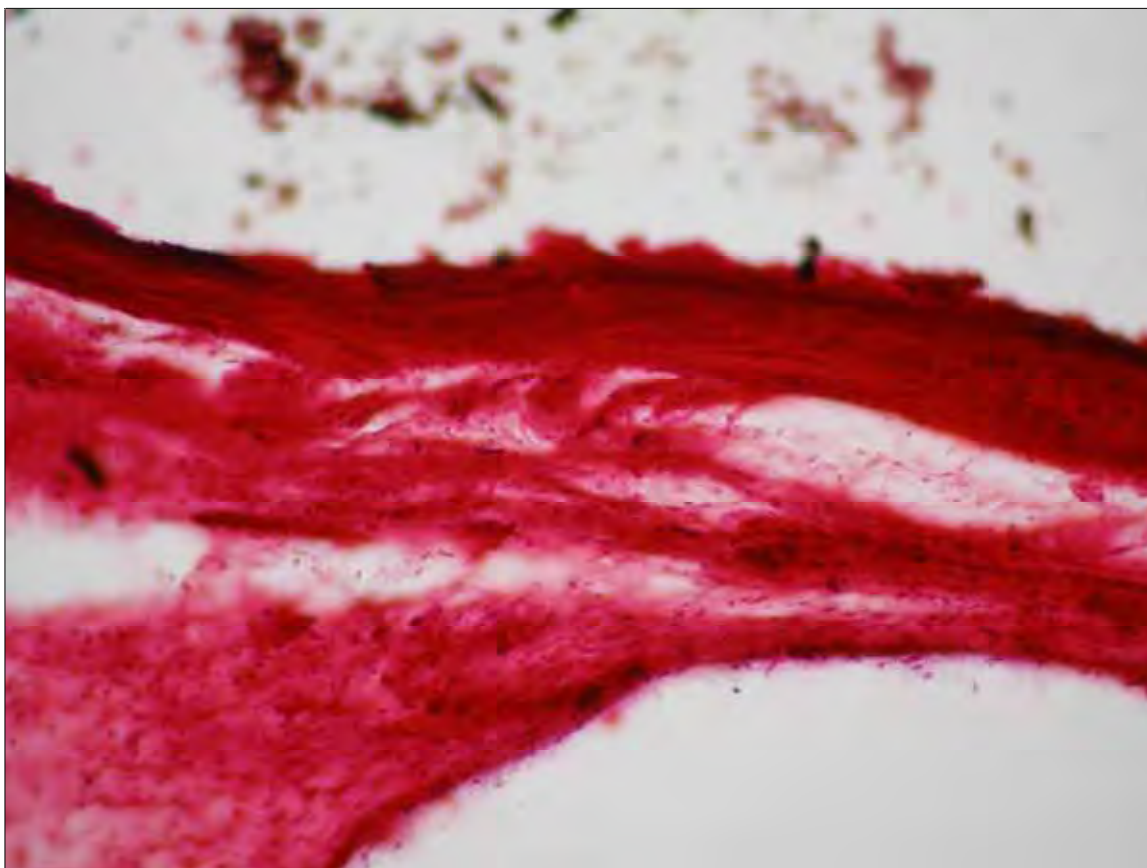


Figura 6. Grupo 30 dias MTA Experimental Fotopolimerizável – Observar ausência de áreas de mineralização (Van Kossa, 25X).

Grupo I – Controle – Tubo Vazio – 60 dias

Comparando-se com o período de observação de 30 dias houve uma diminuição da resposta inflamatória, com diminuição do número de células e espessura da cápsula fibrosa na embocadura do tubo.

Logo na abertura do tubo, foi observada uma pequena extensão do infiltrado inflamatório, no valor médio de menos de 15 μ m. Observou se também a intensidade de células inflamatórias, tendo presença poucos macrófagos, linfócitos e alguns fibroblastos jovens. Neste grupo, foi constatado apenas a presença de inflamação crônica, tendo também moderado aparecimento de células gigantes, de 4

a 6 células em cada corte, e de 1 a 5 vasos sanguíneos presentes até a abertura do tubo, chegando a uma extensão de vascularização de menos de 150 μ m.

Na embocadura do tubo analisado, a cápsula fibrosa apresentou a espessura 20 μ m, com no máximo 10 células inflamatórias. Com relação ao aparecimento de fibroblastos na área de embocadura observou-se, no máximo 125 células, na maioria fibroblastos velhos. Na cápsula fibrosa lateral, onde observou se um número de células inflamatórias semelhante à embocadura, dentre elas macrófagos e células gigantes multinucleadas, e também a presença de fibroblastos velhos.

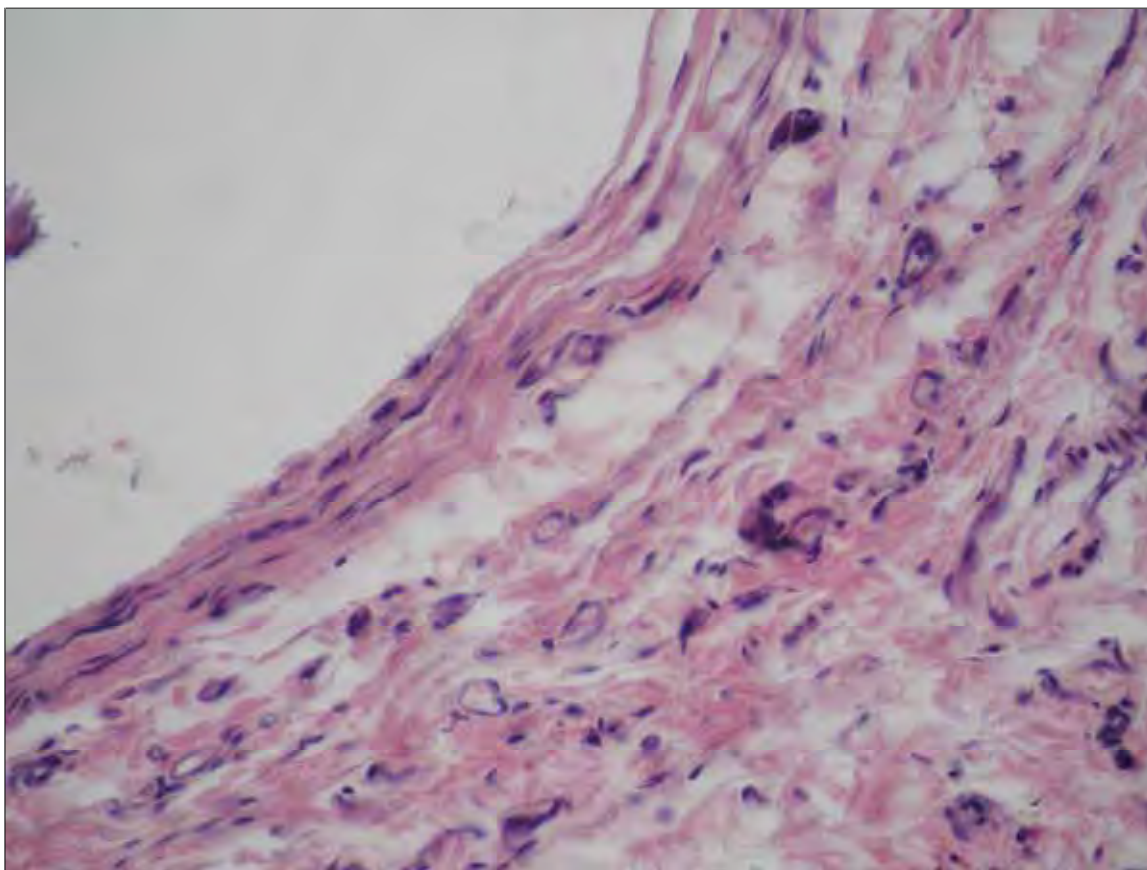


Figura 7. Grupo 60 dias Controle – Observar menor espessura da cápsula fibrosa quando comparado com o tempo de 30 dias, com poucas células inflamatórias crônicas de forma semelhante à cápsula da lateral do tubo (H. E, 40X).

Grupo II – Experimental – Tubo com MTA Ângelus® Cinza – 60 dias

Comparando-se com o período de observação de 30 dias houve uma diminuição da resposta inflamatória, com diminuição do número de células e espessura da cápsula fibrosa na embocadura do tubo.

Observou-se junto à abertura do tubo uma pequena extensão do infiltrado inflamatório, no valor de menos de $150\mu\text{ m}$. Observou-se também a intensidade de células inflamatórias, tendo presença leve de macrófagos, linfócitos e alguns fibroblastos jovens. Neste grupo, foi constatado apenas a presença de inflamação crônica, tendo moderado aparecimento de células gigantes, de 4 a 6 células em cada corte, e de 1 a 5 vasos sanguíneos presentes próximo da abertura do tubo, chegando a uma extensão de vascularização de até $40\mu\text{m}$.

Na embocadura do tubo analisado, a cápsula fibrosa apresentou a espessura de até $20\mu\text{ m}$, com a presença de no máximo 125 células, a maioria fibroblastos com características morfológicas foram considerados velhos. Finalizando a análise deste grupo foi avaliada a cápsula fibrosa lateral, onde observou-se de 1 a 5 células inflamatórias, dentre elas macrófagos e células gigantes multinucleadas, e também a presença de fibroblastos velhos, ao total de no máximo 125 células, de forma semelhante à embocadura.

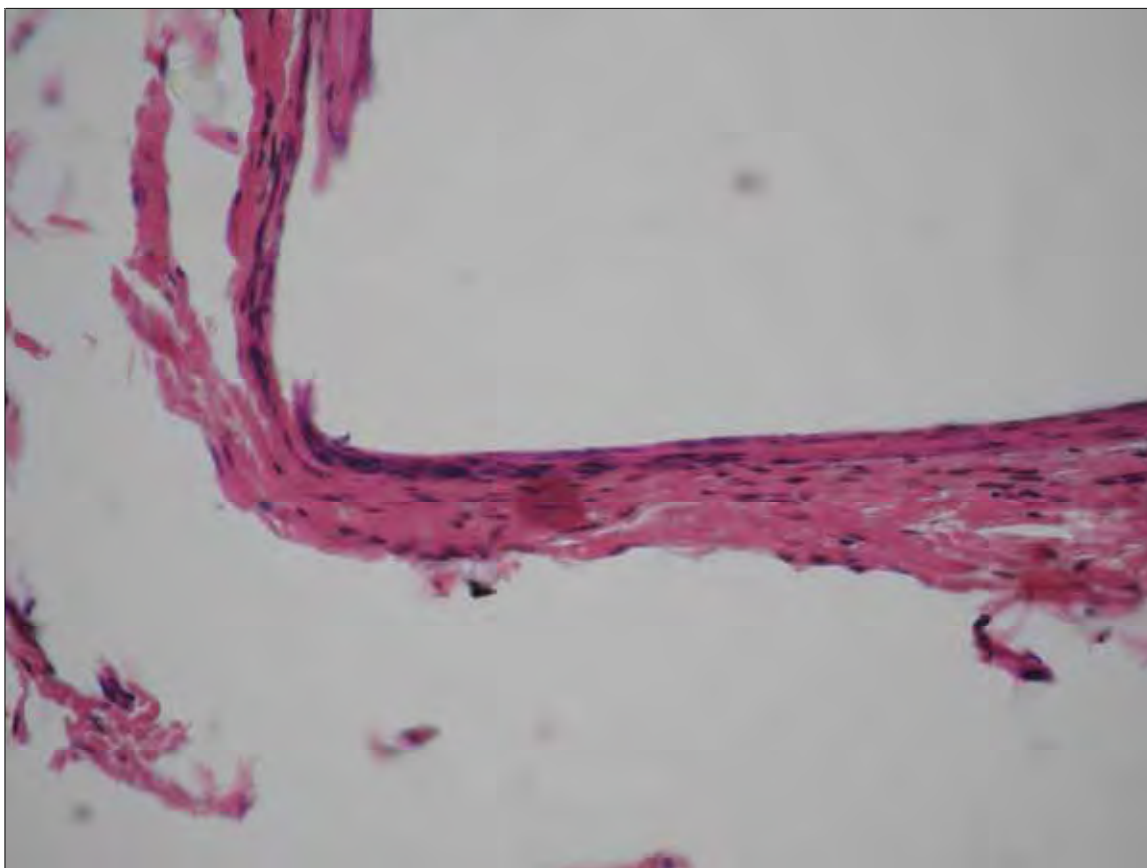


Figura 8. Grupo 60 dias MTA Ángelus® Cinza – Observar menor espessura da cápsula fibrosa quando comparado ao tempo de 30 dias, com poucas células inflamatórias crônicas de forma semelhante à cápsula da lateral do tubo (H. E, 40X).

Grupo III – Experimental – MTA Fotopolimerizável – 60 dias

Comparando-se com o período de observação de 30 dias houve uma diminuição da resposta inflamatória, com diminuição do número de células e espessura da cápsula fibrosa na embocadura do tubo.

Observou-se junto à abertura do tubo uma pequena extensão do infiltrado inflamatório, no valor acima de até 150 μ m. Observou-se também a intensidade de células inflamatórias, tendo presença leve de macrófagos, linfócitos e alguns fibroblastos jovens. Neste grupo, foi constatado apenas a presença de inflamação crônica, tendo também aparecimento de células gigantes, ao redor a 7 células, e de 6

a 10 vasos sanguíneos presentes até a abertura do tubo, chegando a uma extensão de vascularização de até 150 μ m.

Na embocadura do tubo analisado, a cápsula fibrosa apresentou a espessura acima de 150 μ m em alguns espécimes. Analisou-se a presença de células inflamatórias, chegando ao número de 10 a 25 células. Com relação ao aparecimento de fibroblastos na área de embocadura houve grande presença, 51 a 150 células, todos fibroblastos analisados, pelas suas características morfológicas foram considerados velhos. Na cápsula fibrosa lateral, observou-se moderado número de células inflamatórias, ao redor de 10 a 25 células, dentre elas macrófagos e células gigantes multinucleadas, a também a presença de fibroblastos velhos, ao redor de 125 células.

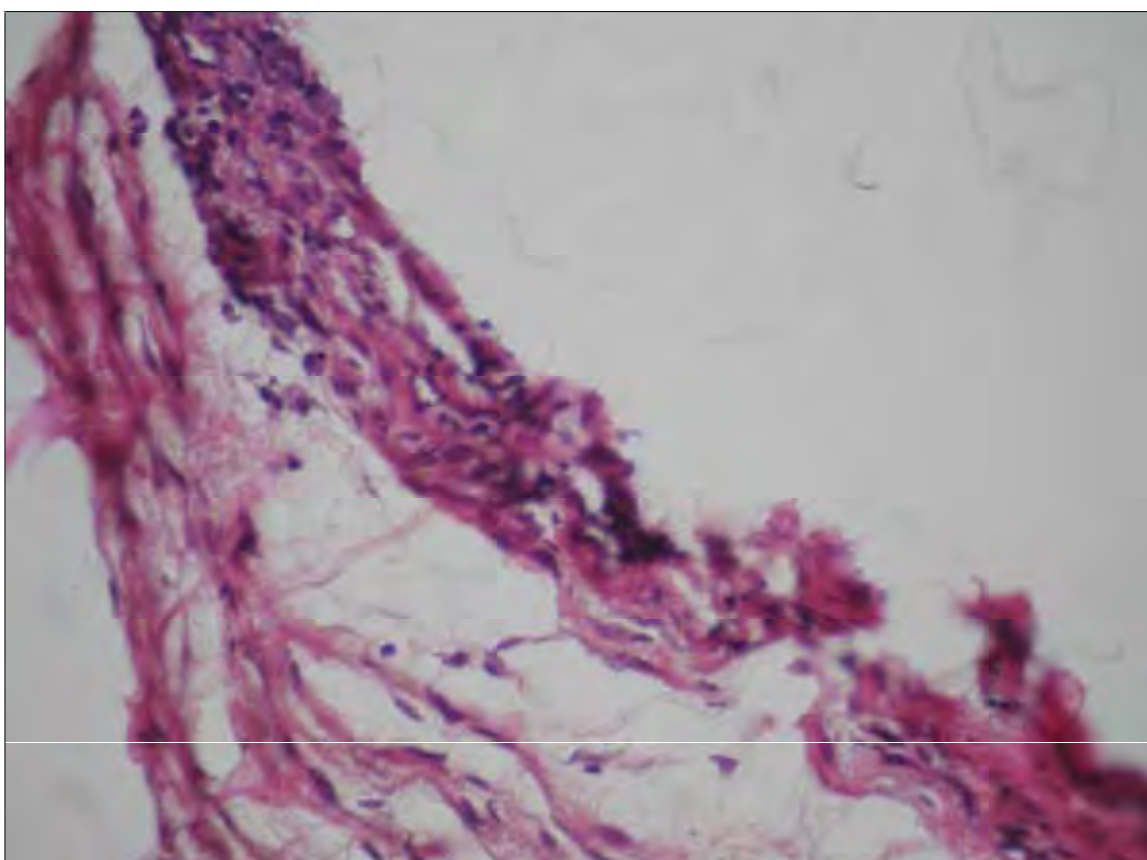


Figura 9. Grupo 60 dias MTA Experimental Fotopolimerizável – Observar menor espessura da cápsula fibrosa quando comparado ao tempo de 30 dias, contudo ainda maior que o MTA Ângelus® cinza e o controle e com poucas células inflamatórias crônicas de forma semelhante à cápsula da lateral do tubo (H. E, 40X).

ANÁLISE QUANTITATIVA

A avaliação microscópica dos cortes teciduais mais representativos de cada grupo e tempo pós-operatório foi realizada por dois observadores e os dados encontrados foram submetidos à análise estatística pelo programa Prisma 3.0¹⁴, utilizando teste de Tuckey ao nível de significância de 0,01%. De forma geral, em ambos os tempos de observação o MTA Fotopolimerizável Experimental estimulou uma resposta tecidual mais intensa que o MTA Ângelus® cinza e o controle que não deferiram estatisticamente entre si. Os gráficos de 1 a 3 ilustram didaticamente os achados estatísticos.

Tabela 3. Escores Médios do Tempo Experimental de 30 dias

Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	P value
MTA CINZA 30 DIAS vs MTA FOTO 30 DIAS	-1,286	P < 0.001
MTA CINZA 30 DIAS vs CONTROLE	0	P > 0.05
MTA FOTO 30 DIAS vs CONTROLE	1,286	P < 0.001

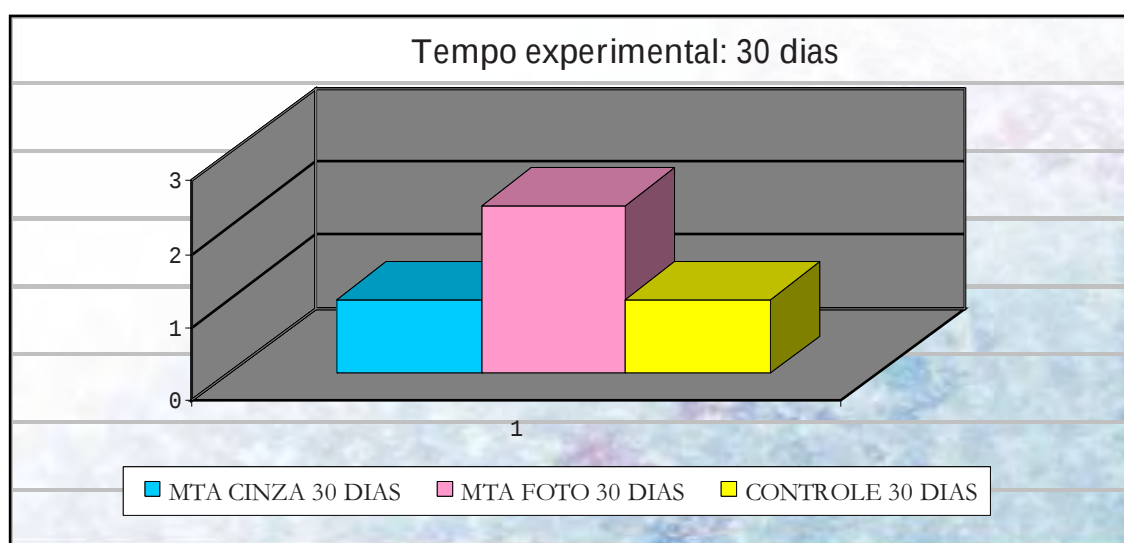


Figura 10. Escores Médios do Tempo Experimental de 30 dias.

¹⁴ Excel – Microsoft Office

Tabela 4. Escores Médios do Tempo Experimental de 60 dias.

Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	P value
MTA CINZA 60 DIAS vs MTA FOTO 60 DIAS	-0,7143	P < 0.001
MTA CINZA 60 DIAS vs CONTROLE 60 DIAS	0	P > 0.05
MTA FOTO 60 DIAS vs CONTROLE 60 DIAS	0,7143	P < 0.001

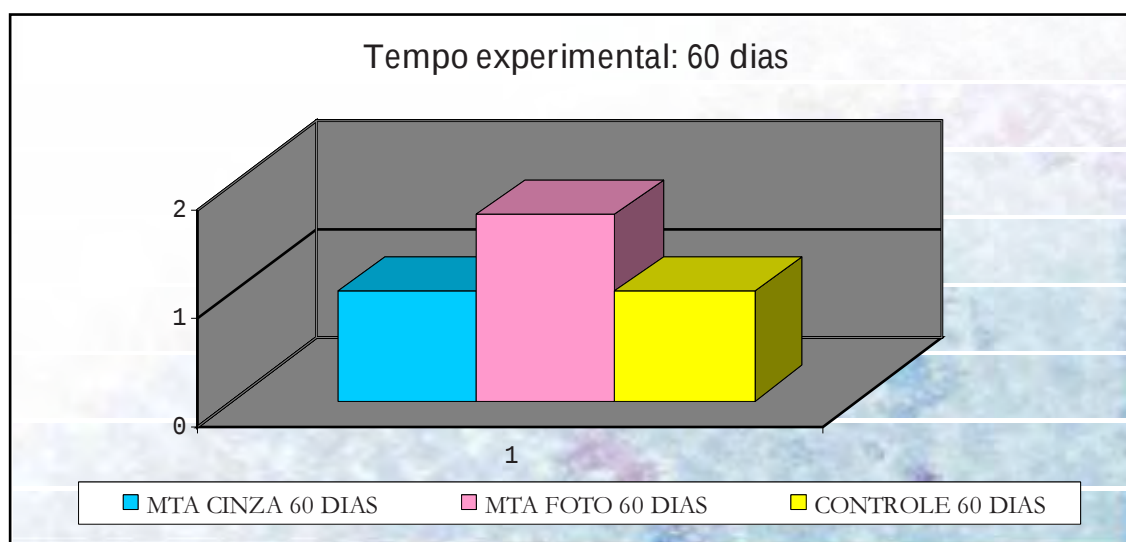


Figura 11. Escores Médios do Tempo Experimental de 60 dias.

Tabela 5. Escores Médios de todos os Tempos Experimentais.

Tukey's Multiple Comparison Test	Mean Diff.	P value
MTA CINZA vs MTA FOTO	-1	P < 0.001
MTA CINZA vs CONTROLE	0	P > 0.05
MTA FOTO vs CONTROLE	1	P < 0.001

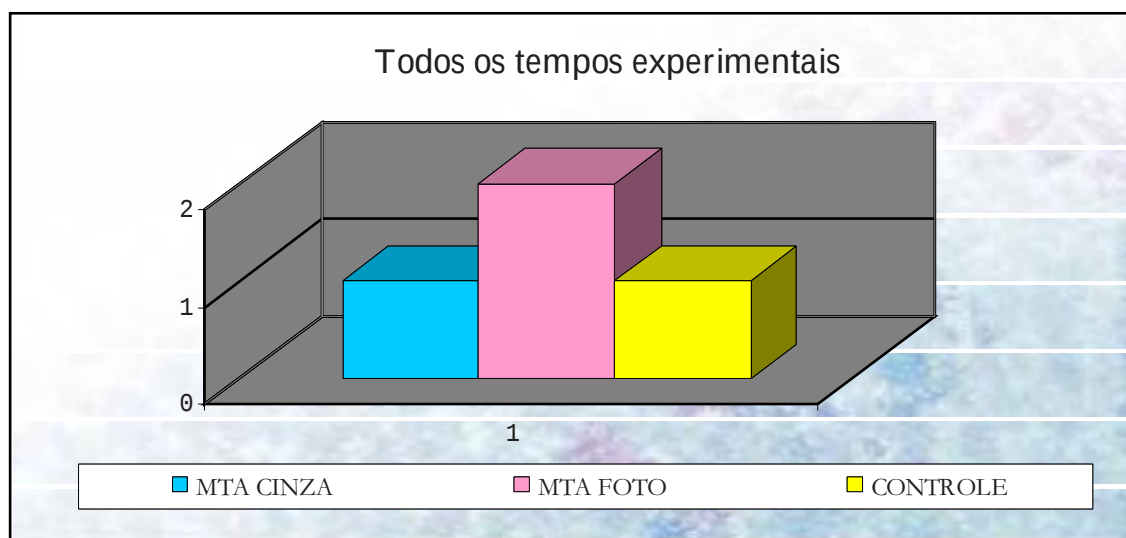


Figura 12. Escores Médios de todos os Tempos Experimentais.

The background of the page is a complex, abstract composition. It features several overlapping squares in shades of light blue, lavender, and pale yellow. Overlaid on these squares is a dense, repeating pattern of small, stylized flowers or leaves in various colors, including deep red, magenta, and teal. The overall effect is a textured, layered visual field.

Discussão



5 Discussão

Da Metodologia Empregada

A finalidade de nosso trabalho foi avaliar in vivo a resposta tecidual frente à implantação de MTA (mineral trióxido agregado) Ângelus cinza® e MTA Fotopolimerizável Experimental em tecido conjuntivo em subcutâneo de ratos, analisando as reações teciduais. A avaliação da biocompatibilidade pode ser feita por diferentes modelos experimentais, tais como, reação periapical em dentes de cães, em polpa de dentes de cães, perfurações, cultura de células e subcutâneo de ratos (25,26,27).

O tecido conjuntivo subcutâneo é constituído por tecido conjuntivo frouxo, que contém fibras colágenas, e apresenta diversos tipos de células que são migratórias, transitórias, devido a vasos sanguíneos locais. A divisão da resposta tecidual entre diferentes células determina o aparecimento de vários tipos celulares dentre eles, macrófagos, fibroblastos, mastócitos, plasmócitos e outras células. Toda essa estrutura e elementos, celulares se enquadram muito bem para diversos experimentos em que se deseja analisar a resposta tecidual frente a vários estímulos (28), sendo o subcutâneo de rato o mais realizado pela facilidade operatória e padronização da metodologia e resultados.

Até 1972, não havia uma metodologia padronizada para testar biologicamente os materiais dentários, foi quando Council on Dental Material and

Devices, divisão de controle de materiais odontológicos, publicou um guia para testes de novos produtos, sendo um dos testes recomendados para observar a toxicidade de materiais, foi o de implante em tecido subcutâneo de ratos (29).

Nossa amostra permitiu uma análise qualitativa e quantitativa através de critérios objetivos, utilizando diferentes eventos como: infiltrado inflamatório, espessura da cápsula fibrosa na embocadura e na lateral do tubo, além da presença do número de fibroblastos, vasos sanguíneos, presença de células gigantes, números de células inflamatórias e envelhecimento de fibroblastos. Muitos trabalhos testando cimentos endodônticos em animais de experimentação avaliaram de forma descritiva qualitativa, o que nos permite a estabelecer parâmetros e escores comparativos. Para a inserção destes materiais a serem estudado, optamos por tubos de polietileno, pela facilidade de se estabelecer à quantidade do material a ser pesquisado (30,31,32). Os tubos de polietileno são largamente empregados e aceitos em protocolos para testes biocompatibilidade em tecidos de subcutâneo de ratos. Estes tubos, utilizados como matriz evitariam traumas mecânicos, exercidos pelos materiais caso estes fossem implantados sozinhos, além da padronização da quantidade de material implantado por espécie. TORNECK em 1966(33), quando estudou a reação do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos frente a implantes com esse tipo de tubo, observou-se discreta reação inflamatória, com presença de cápsula fibrosa não infiltrada, de pequena espessura, apresentando fibras colágenas e células dispostas paralelamente à sua superfície, o que caracterizou uma excelente tolerância ao material por parte do organismo. A partir deste estudo, muitos outros pesquisadores foram estimulados a desenvolver novas pesquisas com a aplicação de tubos de polietileno (34,35,36,37,23). Os tubos de dentina têm sido utilizados há

algum tempo pela disciplina de endodontia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, para que se possa avaliar a capacidade de estimulação da mineralização pelos materiais a serem testados.(38,18,19,20) A técnica anestésica mais utilizada em experimentos com animais de pequeno porte utiliza o éter sulfúrico, substância volátil e de fácil utilização, mas o emprego desse método está sendo abandonado devido à atuação dos comitês de ética para experiências com animais em função do dano respiratório causado ao animal. Para este experimento utilizou o anestésico, cloridrato de ketamina (39), associado a um relaxante muscular, sedativo e analgésico, Xilazina, ambos de uso veterinário, sendo aplicado na região intra peritoneal ou intramuscular(40). A dose foi calculada de acordo com o peso do animal e o período de anestesia, ao redor de 25 minutos, tempo que era suficiente para a realização operatória.

A análise quantitativa adotada, realizada por meio de atribuições de escores, graduando a magnitude dos fenômenos microscópios observados separadamente, foi baseado nos critérios de trabalhos clássicos realizados por Oslo 1978(22), Berit Olsson 1981(23), Orstavik 1988(24), com a finalidade de tornar nossos resultados mais objetivos, porém com algumas modificações em função do modelo biológico proposto neste trabalho e após algumas observações microscópicas.

Dos Materiais

Muitos materiais obturadores vêm sendo estudados e pesquisados, através de várias metodologias. Em dentes decíduos, os materiais endodônticos devem apresentar propriedades fundamentais, como ser reabsorvido simultaneamente com

as raízes do dente decíduo e ser compatível biologicamente (41.) não interferindo no processo de reparação apical, dentre outras.

Um material que vem sendo muito pesquisado é o MTA (mineral trióxido agregado), este material surgiu no começo dos anos 90, como um material experimental que foi desenvolvido na Universidade de Loma Linda-California, Estados Unidos, pelo Professor Mahmoud Torabinejad e sua equipe.

Em odontopediatria ele é pouco usado, por ser um material de preço elevado, além de sua presa ser lenta e de difícil manipulação, visto que em odontopediatria a agilidade no tratamento é fundamental. No mercado encontra-se em duas formas, pó cinza e pó branco, das marcas Ângelus® (Ângelus, Londrina-PR) e ProRoot, (Dentsply Petrópolis RJ) novas formulas experimentais surgem constantemente e devem ser avaliadas quanto suas propriedades, qualidades biológica, físicas e químicas.

No presente trabalho, avaliou-se o MTA cinza da marca Ângelus em relação ao experimental fotopolimerizável, desenvolvido pela empresa bisco de Chicago USA. Quanto às propriedades biológicas trabalhos têm comprovado que por ser um material biocompatível, o MTA não promove inflamação tecidual significativa. Somando a este fator, este material permite o processo de reparo em diversas situações, inclusive, induzindo á deposição de tecido dentinário e osteocementario (9,10,11,42,43,44,18,19,20).

Como resultado da hidratação do pó do MTA, forma se um gel coloidal que se solidifica, em menos de 3 horas, numa estrutura dura e resistente. As características desse material dependem do tamanho da partícula, da proporção pó/liquido utilizada, além da temperatura e presença de água (45).

As principais moléculas presentes no MTA são íons de cálcio e fósforo, esses íons também são os principais componentes dos tecidos dentais, conferindo ao MTA excelente biocompatibilidade, quando em contato com células e tecidos, inclusive com estimulação de formação de tecido duro, sendo seu mecanismo de ação semelhante ao hidróxido de cálcio (46).

Vários trabalhos têm comprovado que por ser um material biocompatível, o MTA não promove inflamação tecidual significativa. Somando a este fator, este material permite o processo de reparo em diversas situações, inclusive segundo os autores induzindo a deposição de tecido dentinário e osteocementário (9,10,11,12,46).

HOLLAND et al, em 1999 (46), observaram a reação do tecido conjuntivo subcutâneo de rato ao MTA e hidróxido de cálcio verificando que a resposta tecidual foi semelhante para os dois materiais, inclusive, observou a presença de tecido duro irregular permeado por um tecido conjuntivo fibroso. Mediante tais resultados esses autores aventaram a possibilidade de que o mecanismo de ação do MTA, na indução de deposição de tecido duro, seja similar ao do hidróxido de cálcio, principalmente porque o MTA contém o óxido de cálcio que quando em contato com água, se transforma em hidróxido de cálcio.

Para comparar a reação dos tecidos periapicais de dentes de cães, o MTA eo Ketac Endo® foram utilizados como cimento endodônticos por HOLLAND et al 1999(46). Trinta dentes de cães tiveram seus canais instrumentados e obturados sendo metade deles obturada com MTA e a outra metade com Ketac Endo®. Depois de 6 meses, os animais foram sacrificados e as amostras examinadas histologicamente. Os resultados demonstraram que houve fechamento apical com

cimento em todas as amostras obturadas com MTA, não se observando resposta inflamatória nos tecidos periapicais. Já no caso do Ketac Endo® houve fechamento apical parcial em duas amostras apenas e diferentes graus de reações inflamatórias crônicas. Os autores utilizaram o MTA como cimento endodôntico obturador e concluíram que este possui algumas propriedades biológicas, recomendando o seu uso. Entretanto, o MTA deveria ter algumas de suas propriedades físicas modificadas para facilitar a sua aplicação. No estudo realizado por Mitchel et al 1999 (47), a biocompatibilidade do MTA foi avaliada em cultura de células MG63, que possuem propriedades fisiológicas e adesivas semelhantes dos osteoclastos, observando a morfologia e crescimento celular e a liberação de citocinas por estas células. O crescimento celular foi quantificado por amostras preparadas nos dias 2, 4, 5 e 7 e analisadas em microscópio eletrônico. Subseqüente, amostras de cultura foram testadas com ELISA para observação da presença de IL-1, IL-6, IL-8, IL-11 e fator estimulante para colônias de macrófagos. Os resultados demonstram bom crescimento celular e produção elevada de fator estimulante para colônias de macrófagos na presença do MTA. As IL-6, IL-8, foram evidenciadas com o emprego do MTA, enquanto que o IL-1 e IL-11 estavam ausentes. Destarte, estes resultados demonstram que o MTA é um material biocompatível e adequado para seu uso clínico.

Com relação ao material MTA experimental, fotopolimerizável, não temos dados quanto a sua composição e propriedades físicas químicas e biológicas, sendo este o primeiro trabalho a ser realizado com este material.

Dos Resultados Obtidos

Pode-se observar o desenvolvimento normal do reparo junto às paredes do tubo, evidenciado pela interação celular entre fibroblastos, macrófagos e células gigantes multinucleadas inflamatórias, o que, de certa forma, indicam a boa compatibilidade biológica dos tubos de polietileno com o tecido alveolar, corroborando com outros trabalhos.(23,33,34,35,36,37,)

O grupo controle, apresentou um crescimento de tecido conjuntivo em seu interior em todos os tempos pós-operatórios, semelhante ao crescimento infiltrativo verificado por TORNECK¹(33), em 1966. Nas porções laterais do tubo, observou-se que houve um desenvolvimento normal do processo de reparo.

Com relação à reação tecidual ocorrida no grupo do MTA, verificou-se uma resposta inflamatória semelhante àquela descrita por HOLLAND (46), em trabalho realizado em tecido subcutâneo de ratos. No período de 30 dias o tecido conjuntivo já estava organizado, sendo observados apenas macrófagos e células multinucleadas inflamatórias, em contato com o material e o tubo. Observou-se, ainda, a presença de áreas Von Kossa positiva no período de 30 dias que, se assemelham àquelas observadas por HOLLAND (46).

Esses achados são corroborados com o trabalho de PINHEIRO; ROLDI; CONSOLARO (48), que avaliaram a citotoxicidade do implante do MTA em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos, acondicionado em discos de dentina. As presenças de cápsula fibrosa, de discreto infiltrado inflamatório e de calcificações distróficas, foram observadas aos 21 dias.

Recentemente YALTIRIK,(49), também publicaram um trabalho, onde foi empregado o MTA em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos, porém acondicionado em tubos de polietileno. Os autores relataram a presença de cápsula fibrosa e discreto infiltrado inflamatório aos 30 dias. Também afirmaram terem observado, por meio da coloração de Von Kossa, a presença de calcificações distróficas, próximo ao material.

Evidenciou-se, por meio da coloração de H.E. (46) ou por meio da coloração de Von Kossa (50) e nos resultados aqui apresentados, que o MTA é um material que pode promover um ambiente tal que, colaboraria com a formação de calcificações distróficas, em contato como o material.

HOLLAND et al (46), relataram que o óxido de cálcio presente no MTA, quando em contato com a água, seria convertido em hidróxido de cálcio que, em contato com os fluidos teciduais, se dissociaria em íons Ca^{2+} e OH^- . Os íons cálcio, reagindo com o CO_2 dos tecidos dariam origem às granulações de calcita, gerando o acúmulo de fibronectina, que por sua vez propiciaria a migração, adesão e diferenciação celular, com conseqüente formação de tecido duro. Essa proteína, a fibronectina, é produzida por fibroblastos, macrófagos e células endoteliais e pertence a um grupo de moléculas responsáveis pela migração, adesão e diferenciação celular de células pulpares e periodontais, que sintetizam e depositam colágeno tipo I, dando origem à matriz extra-celular (51). Ela também poderia influenciar na diferenciação de células pulpares em odontoblastos, ou células do periodonto, em cementoblastos, responsáveis principais pela deposição de minerais (52).

Muitas pesquisas já foram realizadas com MTA, demonstrando suas qualidades de compatibilidade biológica, propriedades físicas e químicas (9,10,11,12,43,45,52,53).

Com relação ao material experimental fotopolimerizável, nenhuma pesquisa ainda havia sido realizada, considerando a polimerização por luz alógena é possível fazer uma espatulação da sua composição, relacionando-a com a presença de uma porção resinosa.

Trabalhos onde são avaliadas as respostas inflamatórias, sobre os tecidos subcutâneos de ratos, de materiais restauradores, como resinas e materiais ionomêricos (54), podem ser comparados especulativamente.

Costa et al. (54) utilizou 20 ratos machos, para a implantação de tubos de polietileno preenchendo resina e ionômero de vidro. Decorridos cada tempo operatório 7, 15, 20, 30 e 60 dias os ratos foram sacrificados e as análises das peças foram realizadas. O resultado observado nos grupos de 7, 15 e 20 dias foi uma grande região de necrose envolta ao tubo e intensa reação inflamatória. Nos grupos de 30 e 60 dias esta necrose ficou moderada na região envolta do tubo, bem como a presença de células inflamatórias.

Este trabalho vem a concordar com o nosso de alguma forma, pois o material experimental teve pequena regressão de suas células inflamatórias no período de 60 dias, mas não apresentaram em nenhum momento áreas de mineralização. No grupo de 30 dias o tecido do grupo do MTA experimental apresentou mais desorganizado e com intensa presença de células inflamatórias. Contudo, não apresentou áreas de necrose.

A molécula de Bis-GMA, principal componente dos compostos resinosos, é facilmente solubilizada (55,56), o que, segundo LANZA (57), que observou a interação de componente adesivo sobre a polpa, poderia ter provocado a interação dessa molécula com os tecidos.

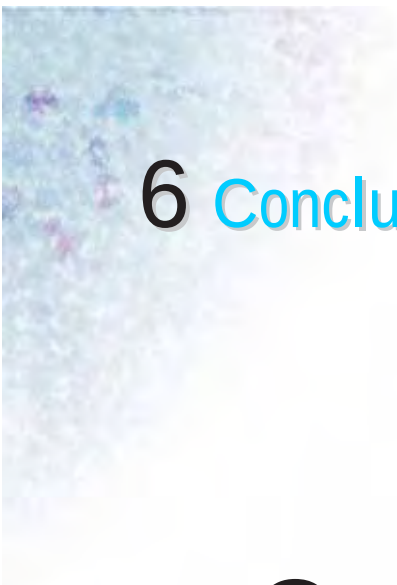
Resultados dos testes de biocompatibilidade das resinas compostas têm mostrado que são moderadamente tóxicas quando estudadas *in vivo* e *in vitro* (54,58,59).

Outros fatores, descritos na literatura que podem aumentar a ação irritante das resinas compostas é a presença de monômeros superficiais não polimerizados sobre o material resinoso, causado pela inibição da reação local exercida pelo oxigênio ou deficiência na completa polimerização da resina por reduzida intensidade de luz do fotopolimerizador ou curto tempo de aplicação de luz visível sobre o material (54). Desta maneira, Ruenggeberg et al (60), concluiu que o tempo de exposição à luz foi de 60 segundos, que o incremento de resina não deve ser maior que 2mm e a intensidade mínima de luz deve ser de 400mw/cm² para uma polimerização uniforme. No presente trabalho, utilizou-se a polimerização do tubo completamente preenchido pelo MTA fotopolimerizável. Os tubos de polietileno permitem a passagem da luz, além disso, a espessura era de 1,6mm, possibilitando a dedução que a completa polimerização tenha ocorrido. Já, quando se utilizou o tubo de dentina, a completa polimerização pode não ter sido atingida, uma vez que as paredes não permitem a refração da luz, e a polimerização ocorreu da embocadura em direção ao centro do tubo. A intensidade de luz sugerida pelo fabricante do aparelho Ultralux da marca Dabi Atlante é de 350 e 500 mw/cm², compatível com a polimerização ideal. Os tubos de dentina poderiam ser preenchidos por

incrementos, mas para manter o mesmo padrão de preenchimento utilizado com o MTA Angelus®, preferiu-se preenchê-los completamente para então serem polimerizados. Uma dificuldade extra ocorreu pelo desconhecimento da composição do material experimental, fato que limitou qualquer tentativa de diminuir os efeitos indesejáveis.

Este trabalho veio a colaborar para a melhora deste material experimental, pois em termos de agilidade e manejo na clínica odontológica ele se apresenta ideal e de fácil manipulação. Estes resultados quanto suas propriedades biológicas serão transmitidas aos seus idealizadores para um possível aperfeiçoamento.

Conclusão

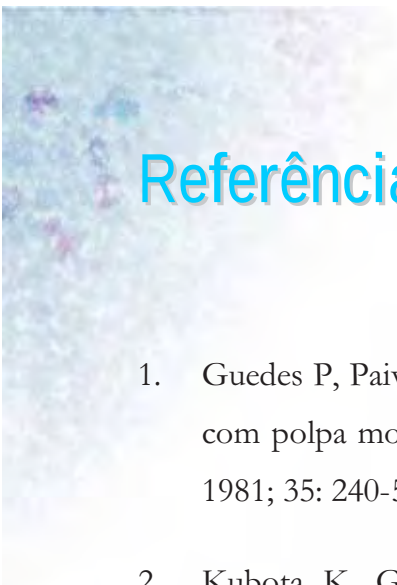


6 Conclusão

Concluiu-se com base na metodologia empregada que:

- 1- o MTA Ângelus® cinza obteve melhor resposta tecidual qualitativa e quantitativa, em relação ao MTA Experimental fotopolimerizável.
- 2- o MTA Ângelus® cinza demonstrou áreas de mineralização .
- 3- o MTA Fotopolimerizável experimental não demonstrou áreas de mineralização.

Referências



Referências

1. Guedes P, Paiva AC, Bozolla, J.R. Tratamento endodôntico de dentes decíduos com polpa mortificada. Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas 1981; 35: 240-5.
2. Kubota K, Golden BE, Penugonanda, B. Root canal filling materials for primary teeth: a review of the literature. Journal Dental Children 1992; 59:225-7.
3. Maisto OA. Velocidade de reabsorcion. Endodoncia Buenos Aires Mundi 1984;4: 215-2.
4. Leal JM. Materiais obturadores de canais radiculares. Endodontia: Tratamento de canais radiculares São Paulo Panamericana 1998;33: 348-4.
5. Guidelaines. For pulps therapy and young permanent teeth. Pediatr.Dent 2000;35: 63.
6. Mani SA. Evalution of calcium hydroxide and zinc oxide eugenol as root canal filling materials in primary teeth.Journal Dental Children 2000;29: 142-7.
7. Woods, R.L.et al. A histologic comaparison of hidron and zinc oxide-eugenol as endodontic filling materials in the primary teeth of dogs. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 1994; 58: 82-93.
8. Lee SJ. Monsef M. Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. Journal Endodontic 1993;11:541-4.
9. Torabinejad M. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. Journal Endodontic 1995; 21:349-3.
10. Torabinejad M. Antibacterial effects of some root end filling materials. Journal Endodontic 1995; 21:403-06.

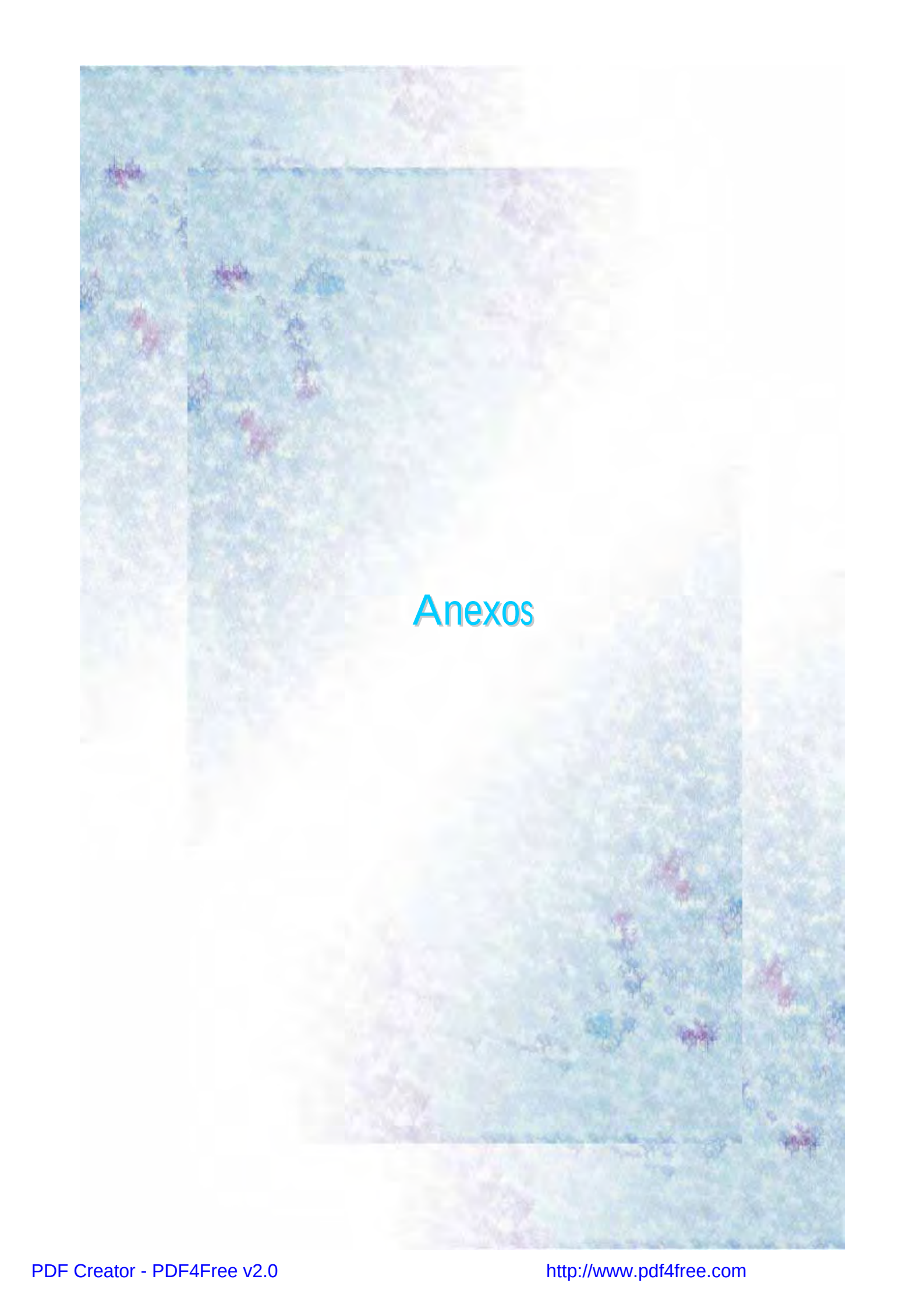
11. Torabinejad M. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *Journal Endodontic* 1995; 21:109-12.
12. Torabinejad M. Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. *Journal Endodontic* 1995; 21:295-9.
13. 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. *Journal Endodontic* 1998; 24:176-9.
14. Nakata TT , Bae KS, Baumgartner JC. Perforation repair comparing mineral trioxide aggregate and amalgam using an anaerobic bacterial leakage model. *Journal Endodontic* 1998; 24:184-6.
15. Holland R. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. *Journal Endodontic* 1999; 25:161-6.
16. Torabinejad M. Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *Journal Endodontic* 1999; 25:197-05.
17. Estrela C. Antimicrobial and chemical study of mta, portland cement, calcium hydroxide paste, sealapex and dycal. *Brazilian Dental* 2000;11:3-9.
18. Holland R. Mineral trioxide aggregate repair of lateral root perforations. *Journal Endodontic* 2001; 27:281-4.
19. Holland R. Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and pulp covering with mineral trioxide aggregate or portland cement. *Brazilian Dental Journal* 2001;12:109-13.
20. Holland R. Agregado de trióxido mineral y cemento portland em la obturación de conductos radiculares de perro. *Endodoncia* 2001;19:275-80.

21. Ruiz PA. Agregado de trióxido mineral (mta): uma nova perspectiva em endodontia. *Revista Brasileira de Odontologia* 2003; 60 :33-5.
22. HAUGEN, E., MJÖR, I. A. Subcutaneous implant for assessments of dental materials with emphasis on periodontal dressings. *J. Periodontal* 1978, 13:262-9.
23. Olsson B. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. *Journal Endodontic* 1981; 7:355-69.
24. Orstavik D, Mijor IA. Histopatoloy andx-microanalysis of the subcutaneo tissue response to endodontic sealers. *Journal Endodontic* 1998; 14:13-23.
25. Okamoto T. Estudo histoquímico da reatividade do tecido conjuntivo após extrações dentais. Tese Doutorado 1964; 53p.
26. Sanches MG. Silicone implantation into dental sockets.histological study in rats.*Journal Nihon University School dental* 1982; 24: 218-26.
27. Langeland K, Olsson B, Pascona A. Biological evaluation of hydron. *Journal Endodontic* 1981; 7:196-04.
28. Meija AMR. Avaliação microscópica da resposta tecidual a implantação de cones de guta percha coloridos nos tecidos conjuntivos e intradérmicos de ratos. Tese de Mestrado 1997; 11p.
29. Council on dental material and devices. American dental association. Recommended standard pratices for biogical evaluation. *Journal American Dental Association* 1972;84:382-90.
30. Birman EG. Estudo das propriedades físicas e biológicas de um cimento endodôntico á base de hidróxido de cálcio. *Revista Odontológica da Universidade de São Paulo* 1990; 4:25-30.
31. Campos CN. Comparação radiográfica e histológica da reabsorção de cimentos obturadores de canais radiculares. Tese de Mestrado 1991; 74p.

32. Leal MJ, Holland R, Esberard RM. Sealapex, crcs, filicanal e n –rickert, estudo da biocompatibilidade em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. *Odontologia Clínica* 1998 ;2:7-14.
33. Torneck CD. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1996; 21:379-87.
34. Holland R. Resposta do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante de alguns materiais obturadores de canal. *Revista da Faculdade de Odontologia de Araçatuba* 1973; 2:217-25.
35. Carvalho APC, Okamoto T, Saad NM. Reação do tecido subcutâneo a alguns anestésicos locais. Estudo histológico em ratos. *Revista da Faculdade de Odontologia de Araçatuba* 1976; 5:53-61.
36. Bernabé PFE. Estudo histológico da reação do tecido subcutâneo de rato ao implante de alguns materiais utilizados nas obturações retrógradas dos canais radiculares. Tese de Mestrado 1977; 105p.
37. Aguiar AS, Santos PR, Okamoto T. Implante composto para obturações retrogradas em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. Estudo histológico. *Revista Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas* 1981; 35:470-84.
38. Holland R. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled white mineral trioxide aggregate. *Brazilian Dental* 2002;13:23-6.
39. Pertot WJ. In vivo comparison of the biocompatibility of two canal sealers implanted into the mandibular bone of rabbits. *Oral Surg, Oral Med. Oral Pathol* 1992;73:613-20.
40. Zimener O, Guglielmotti MB, Cabrini RI. Tissue response to an experimental calcium hydroxide- based endodontic sealer: a quantitative study in subcutaneous connective tissue of the rat. *Endod Dent Traumatol* 1990;6:66-72.

41. Castagnola L, Orlay HG. Treatment of gangrene of the pulp by the walkhof menthod .Br Dent 1952;93:93-02.
42. Pitt F. Using mineral trioxide aggregate as a pulp-capping material. J Amer Dent Assoc 1996;127:1491-94.
43. Torabinejad M. Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root-end filling in monkeys. J Endod 1997; 23 :225-28.
44. Shabahang S. Acomparative study of root end induction using osteogenic protein-1, calcium hydroxide, and mineral trioxide aggregate in dogs. J Endod 1999;25:1-5.
45. Torabinejad M, Watson TF, Pitt FTR.Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. J Endod 1993;19:591-95.
46. Holland R. Reaction of dog's teeth to root canal filling with mineral trioxide aggregate or a glass ionomer sealer. J Endod 1999; 25:728-30.
47. Mitchell PJ. Osteoblast biocompatibility of mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. Endod 1993; 19: 541-44.
48. Pinheiro TN, Roldi A, Consolaro A. Avaliação da citotoxicidade ao implante de discos de dentina preenchidos por agregado de trióxido ou cimento portland em subcutâneo de ratos. Jornada de iniciação científica da UFES 2002 anais 2002;12:p59.
49. Yaltirik M, Ozbas H, Bilgic B, Issever H. Reactions of connective tissue to mineral trioxide aggregate and amalgam. Journal of Endodontics 2004;30:95-9.
50. Holland R.Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with a white mineral trioxide aggregate. Braz Dent J 2002; 13: 23-6.
51. Trowbridge HO, Emling RC. Inflamação: Uma Revisão do Processo 1996; 4: 174p.

52. Bernabé PFE, Holland R. Mta e cimento de portland: considerações sobre as propriedades físicas, químicas e biológicas. *Odontologia arte e conhecimento* 2003; 1:225-64.
53. Torabinejad M. Tissue reaction to implanted root-end filling materials in the tibia and mandible of guinea pigs 1998. *J Endod*; 24:468-71.
54. Costa C A S. Estudo preliminary da compatibilidade biológica das resinas compostas prisam tph e herculite xr. Avaliação histológica de implantes subcutâneos de rato 1997. *Revista Paulista Odontológica*; 3:10 -4.
55. Hanks. Cytotoxic effects of resin components on cultured mammalian fibroblasts 1991. *Dent Res*; 70:1450-5.n.
56. Rrathbun MA. Cytotoxicity of a bis-gma dental composite before and after leaching in organic solvents 1991. *J biomed Mater Res*; 25:443-57.
57. Lanza I D. Avaliação clínica e microscópica de um sistema adesivo aplicado em proteções pulpares diretas de dentes humanos 1997. Tese de Doutorado Faculdade de Odontologia de Bauru Universidade de São Paulo; 145p.
58. Hensten PA, Helgeland k. Evaluation of biological effectes of dental materials using 4 different cell culture techniques 1997. *Scand J Res*; 8:291-96.
59. Wennberg MIA Hensten PA. Biological evalution of dental restorative materials –a comparison of different test metho-ds 1983. *J Biomed Mater Res*; 17:23-36.
60. Ruenggeberg FA, Caughman WF, Curtisjr. Effect of light intensity and exposure duration on cure of resin composite 1994. *Oper Dent* ; 19:26-32.



Anexos

Anexo 1 – Comissão de Ética



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"
Campus de Araçatuba



COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(CEEAA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto "AVALIAÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA APÓS IMPLANTAÇÃO DE TRÊS MTA(MINERAL TRIÓXIDO AGREGADO) EM TECIDO SUBCUTÂNEO DE RATOS " sob responsabilidade de JOÃO EDUARDO GOMES FILHO, MARK L. CANNON E ANA ELISA DE MELLO VIEIRA está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA em reunião de 16 de junho de 2005, de acordo com o protocolo nº 71/05.

Araçatuba, 01 de agosto de 2005.


Prof.ª Ass. Dr.ª Maria Gisela Laranjeira
Presidente

Anexo 2 – Anestésicos para ratos

Tabela 1. Tabela de peso/dosagem utilizada pela disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba–UNESP - em Experimentação de animais para conduta anestésica.

Anestésicos	Peso	Dose normal	Dose maior
Xilazina (Coopazine)	175g	0,06	0,08
Quetamina (Vetaset)	225g	0,14	0,16
Xilazina (Coopazine)	226g	0,08	0,1
Quetamina (Vetaset)	275g	0,18	0,2
Xilazina (Coopazine)	276g	0,09	0,11
Quetamina (Vetaset)	325g	0,21	0,23
Xilazina (Coopazine)	326g	0,11	0,13
Quetamina (Vetaset)	375g	0,24	0,26
Xilazina (Coopazine)	376g	0,12	0,14
Quetamina (Vetaset)	415g	0,28	0,30

Anexo 3 – Preparação do Material e Procedimentos Cirúrgicos

Preparação do material



Figura 1. Introdução do material MTA Ângelus Cinza com broca lentulo.



Figura 2. Introdução do material MTA Fotopolimerizável.



Figura 3. MTA Ângelus Cinza



Figura 4. MTA Fotopolimerizável experimental.



Figura 5. Fotopolimerização (40 segundos) do MTA Fotopolimerizável experimental.



Figura 6. Pontas descartáveis do MTA Fotopolimerizável experimental.

Procedimentos cirúrgicos



Figura 7. Tricotomia da região cirúrgica

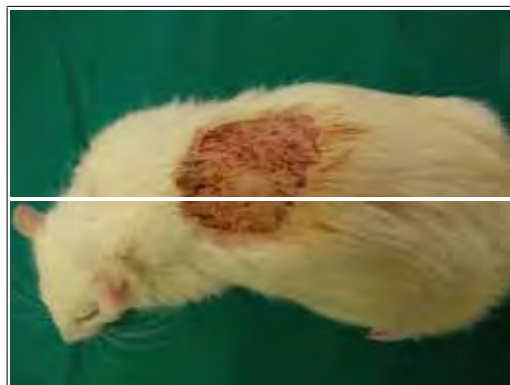


Figura 8. Antiseptia

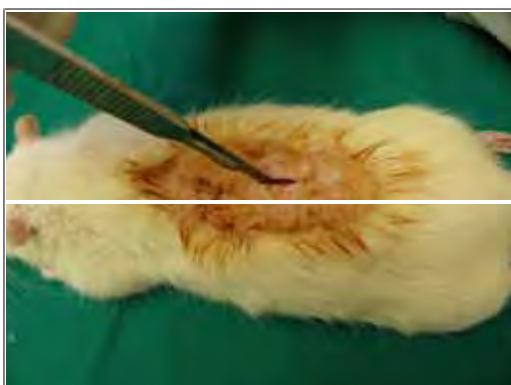


Figura 9. Incisão da área cirúrgica

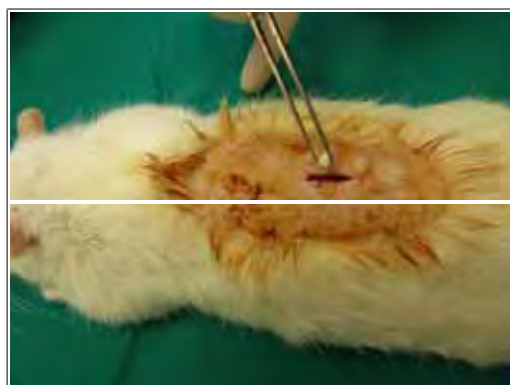


Figura 10. Introdução do tubo de dentina

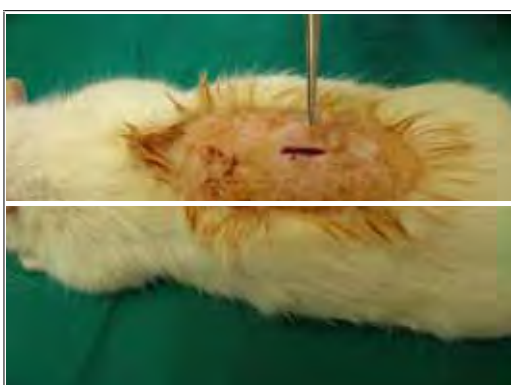


Figura 11. Introdução do tubo de polietileno

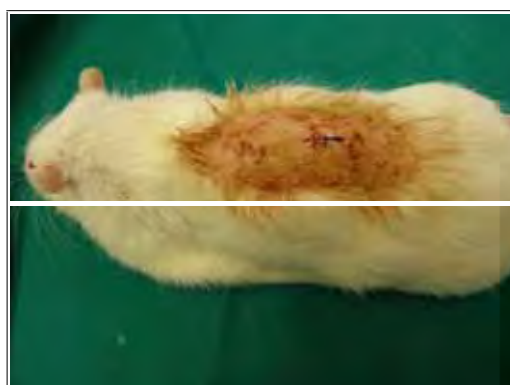


Figura 12. Sutura

Anexo 4 – Escores utilizados na análise quantitativa

ESPÉCIME Nº			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
INFILTRADO INFLAMAT.	AGUDO	Extensão										
		Intensidade										
	CRÔNICO	Extensão										
		Intensidade										
	Presença de células gigantes											
Cápsula Fibrosa Embocadura	Espessura											
	Número de células											
	Envelhecimento dos fibroblastos											
Cápsula Fibrosa Lateral	Espessura											
	Número de células											
	Envelhecimento dos fibroblastos											
Vasos Sanguíneos	Número											
	Extensão											
Mineralização												

CRITÉRIO PARA AVALIAÇÃO DO IMPLANTE DE SUBCUTÂNEO

Infiltrado Inflamatório-EXTENSÃO

1. ausente
2. inflamação na abertura do tubo (até 150 µm)
3. inflamação em área além da abertura do tubo (mais que 150µm)

Infiltrado Inflamatório-INTENSIDADE

1. leve- inferior a 10 células
2. moderado- entre 10 e 25 células
3. severo- superior a 25 células

Infiltrado Inflamatório AGUDO

1. leve- inferior a 10 células
2. moderado- entre 10 e 25 células
3. severo- superior a 25 células

Infiltrado Inflamatório CRÔNICO

1. leve- inferior a 10 células
2. moderado- entre 10 e 25 células
3. severo- superior a 25 células

CÉLULAS GIGANTES multinucleadas

1. ausente
2. de 1 a 3 células
3. de 4 a 6 células

CÁPSULA FIBROSA embocadura- Espessura

1. até 20µm
2. 21 a 150µm
3. acima de 150µm

CÁPSULA FIBROSA embocadura - Número de células

1. até 25 células
2. de 25 a 125 células
3. mais de 125 células

CÁPSULA FIBROSA embocadura - envelhecimento dos fibroblastos

1. jovem
2. velho

CÁPSULA FIBROSA lateral- Espessura

1. até 20µm
2. 21 a 150µm
3. acima de 150µm

CÁPSULA FIBROSA lateral - Número de células

1. até 25 células
2. de 25 a 125 células
3. mais de 125 células

CÁPSULA FIBROSA lateral - envelhecimento dos fibroblastos

1. jovem
2. velho

VASOSOS SANGUINEOS - número

1. de 1 a 5
2. de 6 a 10
3. mais de 10

VASOSOS SANGUINEOS - Extensão

1. na abertura do tubo (até 20µm)
2. na abertura do tubo (até 150µm)
3. além da abertura do tubo (mais de 150µm)

Mineralização –

1. presente
2. ausente

Anexo 5 – Normas para publicação

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

1. 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.
2. **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. **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).

b. **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 (150 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.

- c. **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.
- d. **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 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.
- e. **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.

5. Available Resources:

Strunk W, White EB. The Elements of Style. Allyn & Bacon, 4th ed, 2000, ISBN 020530902X

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