

**MARCELA ITO REY**

**Biocompatibilidade de  
cimentos experimentais comparativamente ao  
Pro-Root® MTA.  
Estudo em tecido subcutâneo de ratos.**

**ARAÇATUBA-SP**

**2014**

**MARCELA ITO REY**

**Biocompatibilidade de  
cimentos experimentais comparativamente ao  
Pro-Root® MTA.  
Estudo em tecido subcutâneo de ratos.**

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

Orientador: Prof. Dr. Luciano Tavares Angelo  
Cintra

**ARAÇATUBA-SP**

**2014**

## ***Dedicatória***

*Aos meus pais, Rene e Marlene, que confiaram em mim e me deram a oportunidade de concretizar e encerrar mais uma etapa da minha vida. Vocês que me proporcionaram, além de muito amor e carinho, os conhecimentos da integridade, da perseverança e de procurar sempre em Deus a força maior para enfrentar os desafios da vida. Por essa razão, gostaria de dedicar e reconhecer à vocês, minha imensa gratidão e todo meu amor.*

*“Se um dia, já homem feito e realizado, sentires que a terra cede a teus pés, que tuas obras desmoronam, que não há ninguém à tua volta para te estender a mão, esquece tua maturidade, passa pela tua mocidade, volta à tua infância e balbucia, entre lágrimas e esperanças, as últimas palavras que sempre restarão na alma: minha mãe, meu pai.” (Rui Barbosa)*

## ***Agradecimentos***

*A Deus, por possibilitar a realização dos meus planos e sonhos. A Ele, toda a gratidão pelos momentos de alegria, por ser o caminho nos momentos de incertezas e por ser o refúgio nos momentos necessários.*

*Mais uma vez, aos meus pais, pelo amor incondicional e dedicação em todos esses anos.*

*A toda minha família, por compartilhar meus sonhos e conquistas, pelo apoio e carinho em todos os momentos.*

*A todos os meus amigos e amigas, em especial, meus amigos da faculdade, por esses anos inesquecíveis de convivência, estudos e muitos momentos eternizados.*

*Ao meu orientador, Prof. Dr. Luciano Tavares Angelo Cintra, pelo exemplo e confiança. Obrigada pela dedicação, incentivo e todos os ensinamentos.*

*Aos professores e funcionários do Departamento de Endodontia da FOA-UNESP, por toda atenção e apoio. Em especial, agradeço ao Prof. Dr. Eloi Dezan Junior, pelo convívio, amizade e todas as oportunidades que me proporcionou nesses anos.*

*A todos os alunos de pós-graduação do Departamento de Endodontia da FOA-UNESP, sem a ajuda de vocês nada disso seria possível. Obrigada pela paciência, amizade e por todos os momentos compartilhados.*

*À Faculdade de Odontologia de Araçatuba, seus docentes e funcionários, obrigada pelo acolhimento, formação e todas as oportunidades.*

*À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho.*

*E por fim, agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para que eu pudesse realizar esse sonho. Muito obrigada!*

REY, M.I. **Biocompatibilidade de cimentos experimentais comparativamente ao Pro-Root® MTA. Estudo em tecido subcutâneo de ratos.** 2014. 27 f. Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2014.

## **Resumo**

Uma propriedade essencial para os materiais de uso endodôntico é a compatibilidade biológica que, uma vez não respeitada, poderá despertar a ocorrência de eventos histopatológicos desfavoráveis. Um dos métodos mais prático e utilizado para o estudo da resposta tecidual de cimentos endodônticos é a implantação de tubos de polietileno contendo esses materiais no tecido subcutâneo de ratos. Tendo em vista o desenvolvimento de cimentos experimentais, que contêm o hidróxido de cálcio em sua formulação, propusemos avaliar quantitativa e qualitativamente a resposta tecidual a estes cimentos, comparando-os ao Agregado de Trióxidos Minerais, Pro-Root® MTA. Foram utilizados 56 tubos de polietileno e 14 ratos (4 tubos por rato), divididos em 4 grupos: G1 – controle (tubos vazios); G2 – tubos contendo o cimento SealAta; G3 – tubos contendo o cimento SealAta Plus; G4 – tubos contendo o ProRoot® MTA. Os períodos de avaliação foram de 7 e 30 dias. Após cada período, sete animais foram sacrificados e os tubos de polietileno juntamente com o tecido que o circunda foram removidos, fixados em solução de formalina a 10%. Os espécimes foram processados para análise em microscopia de luz, com inclusão em glicol metacrilato, cortes seriados de 3µm e coloração por HE. Os cortes teciduais foram avaliados de acordo com critérios pré-estabelecidos, atribuindo-se escores aos eventos microscópicos observados. Os dados obtidos foram analisados do ponto de vista estatístico pelos testes de Kruskal Wallis e Dunn com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ). Pode-se observar resposta inflamatória leve a moderada aos 7 dias, que diminuiu aos 30 dias para todos os materiais. Os cimentos experimentais apresentaram resposta tecidual semelhante ao cimento Pro-Root® MTA aos 7 ( $p=0.85$ ) e aos 30 dias ( $p=0.89$ ). Pode-se concluir que os cimentos experimentais SealAta e SealAta Plus são biocompatíveis, produzindo reações similares ao ProRoot® MTA.

**Palavras-Chave:** Biocompatibilidade, cimentos experimentais, agregado de trióxidos minerais.

REY, M.I. **Biocompatibility of experimental sealers compared to Pro-Root® MTA. Study in the subcutaneous tissue of rats.** 2014. 27 f. Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2014.

### **Abstract**

An essential property of endodontic materials is biological compatibility, since not observed, can wake the occurrence of a series of pathological events unfavorable. One of the most practical and used methods for the study of tissue response to endodontic sealers is the implantation of polyethylene tubes containing these materials in the subcutaneous tissue of rats. Given the development of experimental sealers, which contain calcium hydroxide in its formulation, we propose to evaluate the tissue response to these sealers, comparing them to the Mineral Trióxidos Aggregate, Pro-Root® MTA. Were used 56 polyethylene tubes and 14 rats (four tubes per rat) divided into 4 groups: G1 - control (empty tubes), G2 - tubes containing SealAta; G3 - tubes containing SealAta Plus; G4 - tubes containing the ProRoot® MTA. The evaluation time was 7 and 30 days. After each postoperative period, seven animals were euthanized and the polyethylene tubes were removed with the surrounding tissue and fixed in 10% formalin. The specimens were processed for light microscopy analysis, with inclusion in glycol methacrylate, cut serial 3µm and stained with hematoxylin and eosin. The tissue sections were evaluated by pre-established criteria by assigning scores to the microscopic events observed. Data were analyzed from a statistical viewpoint using the Kruskal Wallis and Dunn with a significance level of 5% ( $p < 0.05$ ). It can be observed mild to moderate inflammatory response at 7 days, which was reduced at day 30 for all materials. The experimental sealers showed tissue response similar to sealer Pro-Root® MTA at 7 ( $p=0.85$ ) and at 30 days ( $p=0.89$ ). It can be concluded that the experimental sealers SealAta and SealAta Plus are biocompatible, producing similar reactions to Pro-Root® MTA.

**Keywords:** Biocompatibility, experimental sealers, mineral trioxide aggregate.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### *Páginas*

|                                                                                 |    |
|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Imagens representativas dos grupos controle e experimentais (HE)..... | 15 |
|---------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gráfico1. Gráfico indicativo das medianas dos grupos experimentais e grupo controle, aos 7 e 30 dias..... | 18 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## LISTA DE TABELAS

### *Páginas*

|           |                                                                                                                 |    |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1. | Teste de Kruskal-Wallis para a intensidade do infiltrado inflamatório entre os grupos no período de 7 dias..... | 17 |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|           |                                                                                                                  |    |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 2. | Teste de Kruskal-Wallis para a intensidade do infiltrado inflamatório entre os grupos no período de 30 dias..... | 17 |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|



## SUMÁRIO

### *Páginas*

1 - INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....09

2 - OBJETIVOS.....11

3 - MATERIAL E MÉTODOS.....12

4 - RESULTADOS.....14

5 - DISCUSSÃO.....19

6 - CONCLUSÃO.....21

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....22

ANEXO.....27

## 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A finalidade do tratamento endodôntico para os casos de necropulpectomia, é neutralizar e remover todo o conteúdo necrótico e tóxico do sistema de canais radiculares por meio do preparo biomecânico e da colocação de um curativo de demora (Gomes-Filho *et al.*, 2011; Holland *et al.*, 2007; Tanomaru *et al.*, 2003). E em casos de biopulpectomia, é remover o tecido pulpar inflamado, impedindo sua futura necrose (Leonardo, 2008). O processo de preenchimento do espaço criado com a remoção do tecido pulpar e preparo biomecânico é chamado de obturação do sistema de canais radiculares (Spangberg, 1982; Hale *et al.*, 2012). Esta tríade composta por preparo biomecânico, curativo de demora e obturação do sistema de canais radiculares denomina-se tratamento endodôntico convencional (Leonardo, 2008).

A obturação tem como objetivo anular o espaço vazio promovendo o selamento hermético do sistema de canais e impedindo que bactérias lesem os tecidos periapicais, e proporcionar condições para que ocorra o processo de reparo, estimulando a ocorrência da obturação biológica (Holland & Souza, 1985; Leonardo, 2008). A necessidade do emprego de materiais que sejam biocompatíveis é uma realidade, pois estarão definitivamente em contato com os tecidos periapicais (Batista *et al.*, 2007; Cintra *et al.*, 2012; Gomes-Filho *et al.*, 2011; Holland & Souza, 1985).

Quanto aos métodos de avaliação da biocompatibilidade dos cimentos endodônticos podemos citar o seu estudo em dentes de animais (Bernabé *et al.*, 2010; Holland *et al.*, 2001; Mutoh *et al.*, 2011; Rowe, 1967), em implantes em tecido subcutâneo de ratos (Cintra *et al.*, 2012; Gomes-Filho *et al.*, 2011; Holland *et al.*, 2002; Morse *et al.*, 1984ab; Orstavik & Mjör, 1988; Torneck, 1966 e 1967), em alvéolo dentário (Cintra *et al.*, 2006; Degrood *et al.*, 1995; Okamoto & Russo, 1973; Wälivaara *et al.*, 2012), e ainda em cultura de células (Langeland *et al.*, 1981; Miranda *et al.*, 2009; Safavi *et al.*, 1989; Willershausen *et al.*, 2011). O implante em tecido subcutâneo de ratos utiliza tubos de polietileno contendo o material a ser avaliado, e é um método simples, de fácil reprodução e padronização (ISO 10993-6, 2007).

Os tubos de polietileno utilizados para este fim devem ser biocompatíveis. Torneck (1966 e 1967) observou discreta reação inflamatória induzida pelos tubos de polietileno quando implantados em tecido subcutâneo de ratos, sendo circunscrito

por cápsula conjuntiva não infiltrada, com fibras colágenas e células dispostas paralelamente à sua superfície, e de pequena espessura, caracterizando uma excelente compatibilidade do material. Verificou ainda, a formação de tecido conjuntivo no sentido da luz dos tubos, e devido a este crescimento infiltrativo, sua utilização foi estimulada em diversas pesquisas com materiais odontológicos (Cintra *et al.*, 2006, 2012).

Para que um cimento seja biocompatível, ele deve ser atóxico, não causar necrose tecidual e ser rapidamente aceito pelos tecidos sem manter uma sequela inflamatória (Guttuso 1963; Morse *et al.*, 1984ab). Particularmente, o hidróxido de cálcio é de fundamental importância para o processo de reparo dos tecidos periapicais, apresentando-se como uma substância de escolha para uso em curativos e materiais obturadores na endodontia, devido algumas de suas propriedades, como indução do selamento biológico, atividade antimicrobiana e biocompatibilidade (Holland *et al.*, 1999, 2002).

As reações teciduais frente a novos materiais devem ser anteriormente verificadas em tecido conjuntivo subcutâneo (ISO 10993-6, 2007). A biocompatibilidade pode ser observada pela coloração de hematoxilina e eosina (H.E.) (Cintra *et al.*, 2012; Gomes-Filho *et al.*, 2008, 2009, 2011).

Os cimentos endodônticos SealAta e SealAta Plus, são cimentos experimentais em desenvolvimento cujas propriedades biológicas estão sendo verificadas. A partir de cimentos precursores, duas novas formulações estão sendo verificadas, sendo uma para obturação convencional e outra para retrocavidades.

A procura por um material cada vez mais apropriado para ser empregado junto aos tecidos periapicais é objetivo da ciência. Como se tratam de novos materiais, pouco se sabe sobre suas propriedades físico-químicas e biológicas, fato que nos motivou a esta pesquisa. Comparativamente a esses dois cimentos experimentais, foi utilizado o Agregado de Trióxidos Minerai, Pro-Root® MTA, material este que já demonstrou em diferentes situações, excelentes resultados (Cintra *et al.*, 2006, 2012; Gomes-Filho *et al.*, 2008, 2009; Holland *et al.*, 1999, 2001; Lee *et al.*, 1993; Torabinejad *et al.*, 1995; Torabinejad & Chivian, 1999).

Admitindo que estes materiais são carentes de informações quanto à resposta tecidual, o objetivo deste trabalho foi avaliar a biocompatibilidade dos cimentos experimentais SealAta e SealAta Plus comparativamente ao Agregado de Trióxidos Minerai, ProRoot® MTA.

## **2. OBJETIVOS**

O objetivo deste trabalho foi avaliar quantitativa e qualitativamente a resposta inflamatória (biocompatibilidade) dos cimentos experimentais SealAta e SealAta Plus, acondicionados em tubos de polietileno e implantados em tecido subcutâneo de ratos, comparando-os ao Agregado de Trióxidos Minerais, ProRoot® MTA.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 14 ratos machos (*Rattus albinus*, Wistar), pesando entre 250g a 280g, provenientes do biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura entre 22 e 24°C, com ciclo de luz controlada (12 horas claro e 12 horas escuro) e em gaiolas coletivas, quatro ratos por gaiola, alimentados durante todo o período experimental com dieta sólida e água “ad libitum”, exceto nas 8-12 horas antes da intervenção. Cada animal recebeu quatro implantes, totalizando 56 implantes. Os procedimentos experimentais propostos neste estudo foram submetidos ao comitê de ética em pesquisa animal (CEUA – UNESP: 2014-00656).

Foram utilizados os cimentos experimentais SealAta e SealAta Plus e o Agregado de trióxidos minerais, Pro-Root® MTA (Dentsply Tulsa Dental Ltda.).

Foram utilizados 56 tubos de polietileno (Abbot Lab. Do Brasil Ltda., São Paulo) com 1,0 mm de diâmetro interno, 1,6 mm de diâmetro externo e 10,0 mm de comprimento (ISO 10993-6: 2007), os quais foram esterilizados em óxido de etileno (ISO 10993-7: 1995).

Para anestesia dos animais foi utilizado, via intramuscular um sedativo à base de xilazina (Dopaser, Calier S.A. - Barcelona, Espanha – 10mg/Kg) e um anestésico à base de Cloridrato de Ketamina a 5% (Vetanarcol, König S. A. – Avellaneda, Argentina – 25mg/Kg).

Os animais foram inicialmente pesados, e em seguida, anestesiados. O período de trabalho com cada animal não ultrapassou 5 minutos para não haver necessidade de complementação anestésica.

Após a anestesia, foi feita a tricotomia da região dorsal e a lavagem da área com a finalidade de se evitar contaminação do campo cirúrgico pela presença de pelos. A antissepsia da área desprovida de pelos foi efetuada com solução de iodo 5%. Em seguida, iniciou o procedimento cirúrgico, fazendo-se uma incisão com lâmina de bisturi número 15, no dorso do animal, (tendo a coluna vertebral como linha média de marcação). Após a divulsão do tecido subcutâneo para o lado esquerdo da porção cranial e caudal, e direito da porção cranial e caudal, cada bolsa recebeu, com auxílio de pinça reta, um tubo. Assim, cada animal recebeu quatro tubos, três preenchidos com os materiais a serem testados e um tubo vazio como controle. O tecido foi suturado com fio de seda 4.0 (Ethicon, Johnson e Johnson, São Paulo, SP, Brazil) não reabsorvível, e a antissepsia final foi realizada com

solução de iodo 5%. Os animais foram acompanhados até se recuperarem da anestesia antes de retornarem ao biotério.

Assim, após os procedimentos experimentais, foram formados os grupos:

- Grupo 1: Controle
- Grupo 2: SealAta
- Grupo 3: SealAta Plus
- Grupo 4: Pro-Root® MTA

Os períodos de avaliação foram de 7 e 30 dias (American National Standards Institute 1979, Federation Dentaire International 1980). A cada tempo experimental, sete animais foram eutanasiados por meio de uma dose excessiva de anestésico (Pentobarbital sódico 100mg/kg). Após a eutanásia, foi realizada novamente uma tricotomia da região dorsal, e antissepsia da área com solução de iodo 5%. 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 envolvem e foram fixados em solução formalina 10% pH 7. As amostras foram processadas e incluídas em glicol metacrilato (GMA) (Gomes-Filho *et al.*, 2001), cortadas seriadamente em 3-  $\mu$ m para serem coradas com hematoxilina e eosina.

#### **4. RESULTADOS**

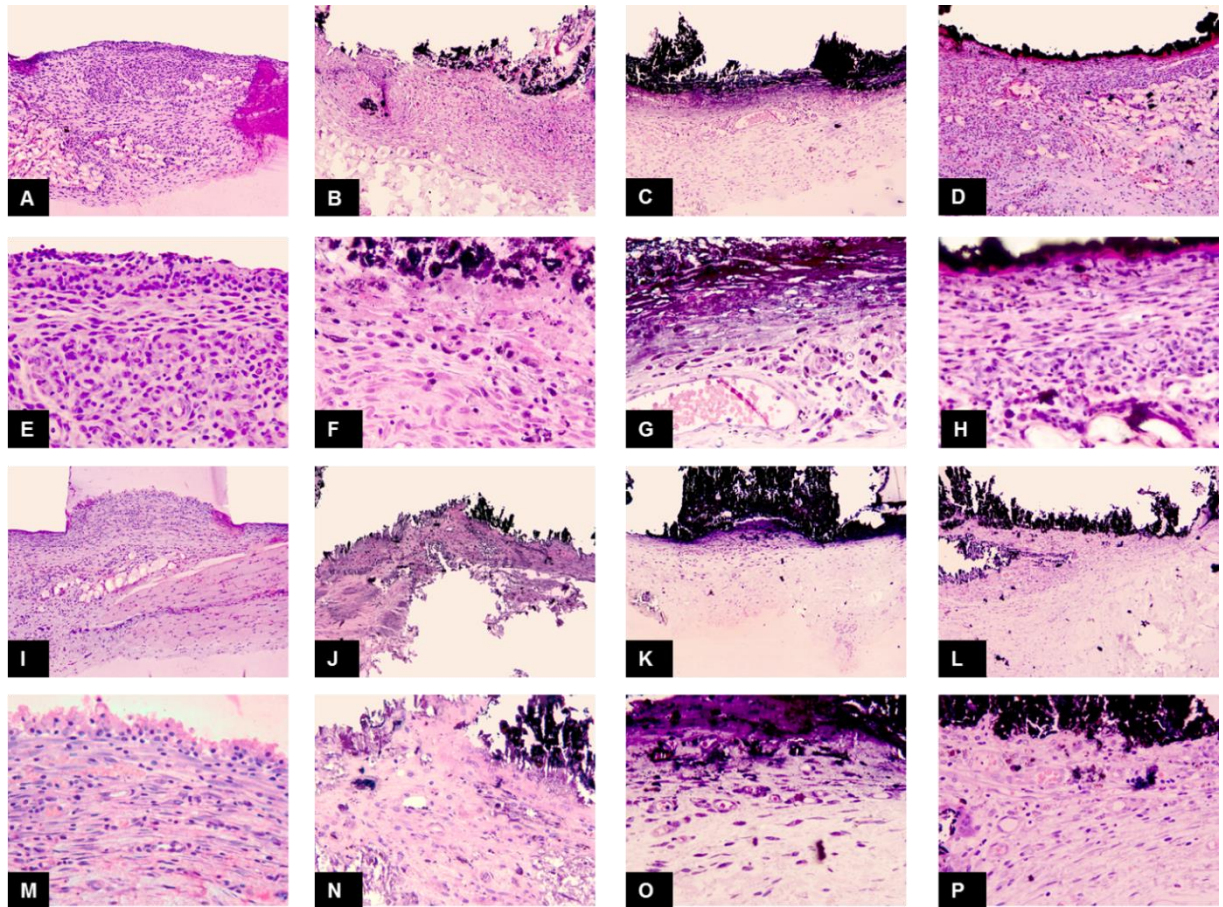
Os resultados foram expostos por meio de duas análises, sendo uma qualitativa (descritiva) e outra quantitativa, referentes a cada grupo experimental e tempo pós-operatório.

O método de avaliação a ser empregado foi baseado nos critérios descritos por Orstavik & Mjör, 1988; Federation Dentaire International, 1980; Cintra *et al.*, 2010. As magnitudes registradas na forma de escores foram:

##### **Critério infiltrado inflamatório agudo ou crônico quanto à intensidade**

A intensidade do processo inflamatório foi analisada em conformidade com o número médio aproximado de células inflamatórias presentes em diferentes campos, de um mesmo espécime, examinados em aumento de 400X.

- 1 – Células inflamatórias ausentes ou em número desprezível;
- 2 – Infiltrado inflamatório leve (menos de 25 células por campo);
- 3 – Infiltrado inflamatório moderado (entre 25 e 125 células por campo);
- 4 – Infiltrado inflamatório severo (mais que 125 células por campo).



**Figura 1.** Imagens representativas dos grupos controle e experimentais (HE). Grupo controle: (A, E) concentração celular abrangendo grande área tecidual denotando infiltrado inflamatório moderado após 7 dias; (I, M) organização celular com formação de cápsula fibrosa fina e infiltrado inflamatório leve após 30 dias (100x e 400x). ProRoot® MTA: (B, F) infiltrado de células inflamatórias moderado e formação de cápsula fibrosa espessa após 7 dias; (J, N) redução da espessura da cápsula fibrosa e infiltrado leve próximo ao tubo, após 30 dias (100x e 400x). SealAta: (C, G) cápsula fibrosa espessa e infiltrado moderado composto de linfócitos e macrófagos, após 7 dias; (K, O) cápsula fibrosa fina envolvendo o tubo com poucas células inflamatórias crônicas, após 30 dias (100x e 400x). SealAta Plus: (D, H) cápsula fibrosa espessa e infiltrado inflamatório moderado, após 7 dias; (L, P) infiltrado de células inflamatórias crônica leve e fina cápsula fibrosa, após 30 dias (100x e 400x).



**Grupo Controle**

Aos 7 dias, observou-se resposta inflamatória leve, com infiltrado inflamatório contendo linfócitos e macrófagos presentes na cápsula fibrosa. Aos 30 dias, o tecido conjuntivo apresentou-se bem organizado e poucas células inflamatórias crônicas foram observadas.

**Grupo ProRoot® MTA**

Aos 7 dias, foi observada uma camada superficial de espessura irregular com áreas de necrose de coagulação, e fragmentação nuclear em contato próximo com o material. Entretanto, aos 30 dias, áreas basofílicas irregulares foram observadas, servindo de matriz para mineralização.

**Grupo SealAta**

O SealAta apresentou resultados semelhantes aos outros grupos. Aos 7 dias, um infiltrado moderado de células inflamatórias crônicas composto de linfócitos e macrófagos estavam presentes em uma cápsula fibrosa. E aos 30 dias, os tecidos demonstraram uma reação inflamatória leve, com poucas células inflamatórias crônicas e uma cápsula fibrosa fina.

**Grupo SealAta Plus**

O SealAta Plus mostrou uma resposta inflamatória semelhante ao observado com ProRoot® MTA. Aos 7 dias, observou-se um infiltrado inflamatório moderado composto por macrófagos e linfócitos junto ao tecido conjuntivo, com poucos fibroblastos jovens, e vasos sanguíneos novos. Aos 30 dias, observou-se um infiltrado inflamatório discreto com poucas células inflamatórias crônicas.

### Análise Estatística

A avaliação microscópica foi efetuada por 3 observadores sem que soubessem quais grupos estavam avaliando e, depois de um consenso determinaram os escores para todos os itens em cada espécime. Os resultados da análise microscópica quantitativa dos cortes longitudinais semi-seriados dos tubos contendo os materiais, representativos de cada grupo experimental, foram apresentados por meio de uma análise comparativa de acordo com os escores atribuídos aos critérios de avaliação.

De posse dos dados obtidos na forma de escores, foi realizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (Siegel *et al.*, 1956) para os critérios de análise histológica empregado. Esse teste comparou os 4 grupos entre si, para posteriormente, quando observada alguma diferença significativa, realizar o cruzamento entre os grupos, dois a dois, pelo teste de comparações múltiplas de Dunn (Dunn, 1958).

Por se tratar de avaliação por meio de escores, ou seja, dados não paramétricos, os dados expostos nas tabelas referentes aos testes estatísticos foram apresentados através de postos médios. Para todos os testes empregados foi considerado o nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 1 – Teste de Kruskal-Wallis para a intensidade do infiltrado inflamatório entre os grupos no período de 7 dias.**

| Grupos       | Mediana        | Soma de Postos | Posto Médio | Amostra |
|--------------|----------------|----------------|-------------|---------|
| Controle     | 2 <sup>a</sup> | 84             | 12          | 7       |
| MTA          | 3 <sup>a</sup> | 112            | 16          | 7       |
| SealAta      | 2 <sup>a</sup> | 84             | 12          | 7       |
| SealAta Plus | 3 <sup>a</sup> | 126            | 18          | 7       |

Probabilidade:  $p > 0.05$

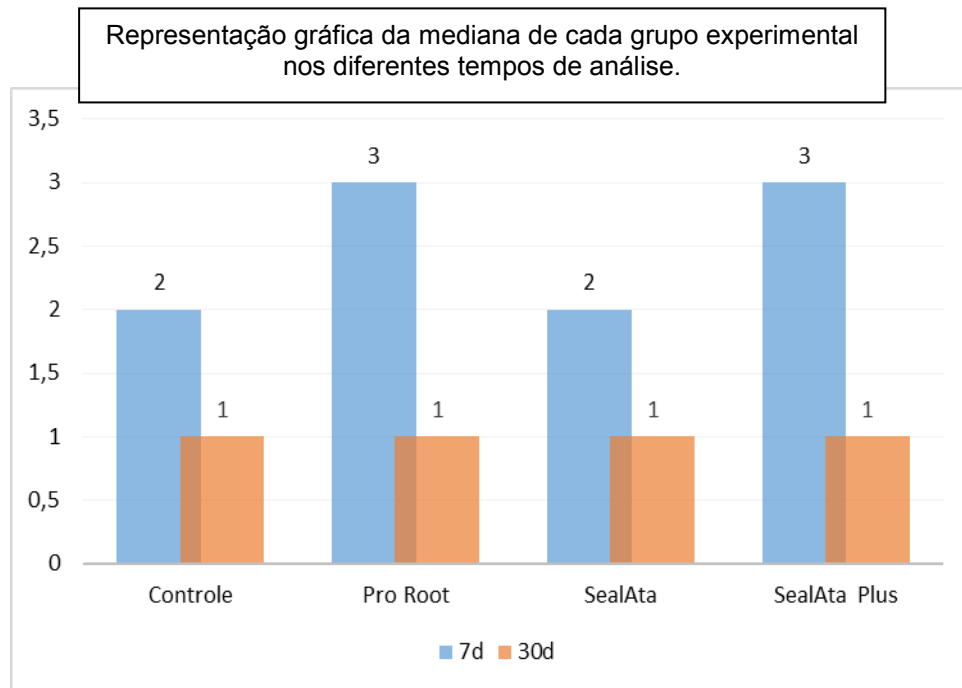
**Tabela 2 – Teste de Kruskal-Wallis para a intensidade do infiltrado inflamatório entre os grupos no período de 30 dias.**

| Grupos       | Mediana        | Soma de Postos | Posto Médio | Amostra |
|--------------|----------------|----------------|-------------|---------|
| Controle     | 1 <sup>a</sup> | 105            | 15          | 7       |
| MTA          | 1 <sup>a</sup> | 105            | 15          | 7       |
| SealAta      | 1 <sup>a</sup> | 91             | 13          | 7       |
| SealAta Plus | 1 <sup>a</sup> | 105            | 15          | 7       |

Probabilidade:  $p > 0.05$

### Comparação entre os grupos

A coloração por Hematoxilina e Eosina revelou uma resposta similar de reação inflamatória do tecido entre os grupos. Não houve diferença estatística significativa entre os diferentes grupos nos tempos de 7 e 30 dias ( $P>0.05$ ).



**Gráfico1.** Gráfico indicativo das medianas dos grupos experimentais e grupo controle, aos 7 e 30 dias. Aos 7 dias, nos grupos experimentais, um infiltrado inflamatório variando de leve a moderado, enquanto que aos 30 dias, houve redução da inflamação para ausente ou número desprezível.

## 5. DISCUSSÃO

A necessidade de proporcionar condições para que ocorra o processo de reparo e estimular a ocorrência da obturação biológica, deve ser um aspecto inerente do material obturador. Para que um cimento seja biocompatível, ele deve ser atóxico, não causar necrose tecidual e ser rapidamente aceito pelos tecidos sem manter uma sequela inflamatória (Bernabé, 1994; Cintra *et al.*, 2006; Guttuso, 1963; Morse *et al.*, 1984ab).

Quanto aos métodos de avaliação da biocompatibilidade de materiais obturadores, tem sido realizados estudos em dentes de animais, implante em tecido subcutâneo de ratos, alvéolo dentário e em cultura de células (Cintra *et al.*, 2006, 2012; Gomes-Filho *et al.*, 2008, 2011). Uma das formas mais práticas é a sua implantação no tecido subcutâneo de ratos empregando-se tubos de polietileno (Cintra *et al.*, 2012).

Na presente investigação, as observações microscópicas evidenciaram em todos os espécimes do grupo controle uma reação inflamatória leve a moderada no primeiro período de observação (7 dias) com diminuição de sua intensidade no segundo período de análise (30 dias). De forma semelhante, a cápsula fibrosa apresentou-se mais delgada aos 30 dias em todos os espécimes. Quanto à presença de células gigantes no infiltrado inflamatório, observou-se menor intensidade apenas no período de 7 dias, semelhantes a resultados anteriormente relatados (Bernabé *et al.*, 2002; Cintra *et al.*, 2012).

As pequenas diferenças entre o infiltrado inflamatório são vistas somente em relação ao grupo controle onde a ausência do material teste favoreceu o processo de cicatrização tecidual. Por outro lado, a inflamação limitou-se a magnitude leve de acordo com os critérios previamente estabelecidos.

Especificamente, em relação à reação tecidual ocorrida no grupo do ProRoot® MTA, verificou-se uma resposta inflamatória semelhante àquela descrita em trabalhos realizados em tecido subcutâneo de ratos (Cintra *et al.*, 2012; Cunha *et al.*, 2011; Holland *et al.*, 1999). Observou-se uma faixa superficial de espessura irregular com necrose por coagulação e, subjacente a ela um discreto infiltrado inflamatório, aos 7 dias. No período de 30 dias, o tecido conjuntivo tornou-se mais organizado, com redução do processo inflamatório, preservando apenas macrófagos e células multinucleadas, em contato com o material e o tubo.

Com relação ao SealAta Plus, verificou-se uma resposta inflamatória com algumas semelhanças àsquelas observadas com o ProRoot® MTA. O infiltrado inflamatório observado aos 7 dias, caracterizou-se por apresentar macrófagos e eventuais neutrófilos de permeio aos fibroblastos jovens e aos vasos neoformados. Na interface do material com o tecido conjuntivo notou-se uma faixa de hemorragia e fragmentação nuclear.

No SealAta, verificou-se resposta inflamatória muito semelhante ao observado com o SealAta Plus. A diferença entre os cimentos SealAta e SealAta Plus é a proporção entre os materiais que os compõe.

Apesar de suas características favoráveis, o ProRoot® MTA possui dificuldade de manipulação e de inserção que requer umidade adicional para ativar sua melhor forma de emprego (Abdullah *et al.*, 2002; Aqrabawi, 2000; Astrand & Carlsson, 1969; Bates *et al.*, 1996; Bernabé, 1981; Bernabé *et al.*, 2006; Cintra *et al.*, 2012; Gomes-Filho *et al.*, 2009).

Tanto o SealAta quanto o SealAta Plus, quando comparados ao ProRoot® MTA, demonstraram semelhança no potencial irritante junto ao tecido conjuntivo, como já relatado em estudos anteriores (Gomes-Filho *et al.*, 2009).

Estes dados sugerem que o SealAta e SealAta Plus podem ser uma alternativa adequada como materiais obturadores e retrobturadores, devido à facilidade de manuseio, de inserção e as propriedades biológicas mostradas na presente investigação. No entanto, mais estudos devem ser realizados para elucidar essas propriedades dos materiais e confirmar os resultados presentes, especialmente em condições clínicas.

## **6. CONCLUSÃO**

Pode-se concluir que os cimentos SealAta e SealAta Plus são biocompatíveis e comportaram-se de forma semelhante ao ProRoot® MTA, quanto à resposta inflamatória.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABDULLAH, D.; FORD, T.R.; PAPAIOANNOU, S.; NICHOLSON, J.; MCDONALD, F. An evaluation of accelerated Portland cement as a restorative material. *Biomaterials*. 2002 Oct; 23 (19):4001-10.
2. American National Standards Institute/Revised American National Standards Institute American Dental Association. Document No. 41. For recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. 1979. New York, NY: American National Standards Institute.
3. AQRABAWI, J. Sealing ability of amalgam, super EBA cement, and MTA when used as retrograde filling materials. *Br Dent J*, v.188, n.5, p.266-8, Mar. 2000.
4. ASTRAND, P.; CARLSSON, G.E. Changes in the alveolar process after extractions in the white rat. A histologic and fluorescent microscopic study. *Acta Odont Scand*, v.27, p.113-127, 1969.
5. BATES, C.F.; CARNES, D.L.; DEL RIO, C.E. Longitudinal sealing ability of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *J Endod*, v.22, n.11, p.575-8, Nov. 1996.
6. BATISTA, R.F.; HIDALGO, M.M.; HERNANDES, L.; CONSOLARO, A.; VELLOSO, T.R.; CUMAN, R.K.; CAPARROZ-ASSEF, S.M.; BERSANI-AMADO, C.A. Microscopic analysis of subcutaneous reactions to endodontic sealer implants in rats. *J Biomed Mater Res A* 2007; 81:171-7.
7. BERNABÉ, P.F.; CINTRA, L.T.; GOMES-FILHO, J.E.; SAITO, C.T.; BERNABÉ, D.G.; OTOBONI, J.A. *et al.* Evaluación in vitro de la capacidad selladora marginal de materiales retroobturadores: estudio del cemento Sealapex adicionado con MTA. *Med Oral*. 2006;8:61-7
8. BERNABÉ, P.F.; GOMES-FILHO, J.E.; CINTRA, L.T.; MORETTO, M.J.; LODI, C.S.; NERY, M.J.; OTOBONI FILHO, J.A.; DEZAN, E .JR. Histologic evaluation of the use of membrane, bone graft, and MTA in apical surgery. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010;109: 309-14.
9. BERNABÉ, P.F.; GOMES-FILHO, J.E.; ROCHA, W.C.; NERY, M.J.; OTOBONI-FILHO, J.A.; DEZAN-JÚNIOR, E. Histological evaluation of MTA as a root-end filling material. *Int Endod J* 2007;40: 758-65.

10. BERNABÉ, P.F.E. Estudo histopatológico realizado em dentes de cães com lesão periapical após apicectomia e tratamento endodôntico via retrógrada. Influência do nível da obturação e do material obturador. Araçatuba, 1994. 352 p. Tese (Livre-docência) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.
11. BERNABÉ, P.F.E. Comportamento dos tecidos periapicais após apicectomia e obturação retrógrada. Influência do nível da obturação, do material obturador e das condições do canal radicular: estudo histológico em dentes de cães. Bauru, 1981. 124p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
12. BERNABÉ, P.F.E. *et al.* Evaluation of root end preparations and retro filling materials in pulp less dog's teeth. J Endod, 2002. /no prelo
13. CINTRA, L.T.; BERNABÉ, P.F.; DE MORAES, I.G.; GOMES-FILHO, J.E.; OKAMOTO, T.; CONSOLARO, A.; PINHEIRO, T.N. Evaluation of subcutaneous and alveolar implantation surgical sites in the study of the biological properties of root-end filling endodontic materials. J Appl Oral Sci 2010;18:75-82.
14. CINTRA, L.T.; DE MORAES, I.G.; ESTRADA, B.P.; GOMES-FILHO, J.E.; BRAMANTE, C.M.; GARCIA, R.B.; BERNARDINELLI, N. Evaluation of the tissue response to MTA and MBPC: Microscopic analysis of implants in alveolar bone of rats. J Endod 2006;32: 556-9.
15. CINTRA, L.T.; RIBEIRO, T.A.; GOMES-FILHO, J.E.; BERNABÉ, P.F.; WATANABE, S.; FACUNDO, A.C.; SAMUEL, R.O.; DEZAN-JUNIOR, E. Biocompatibility and biomineralization assessment of a new root canal sealer and root-end filling material. Dent Traumatol 2012 Apr 18.
16. CUNHA, S.A.; RACHED, F.J. JR.; ALFREDO, E.; LEÓN, J.E.; PEREZ, D.E. Biocompatibility of sealers used in apical surgery: a histological study in rat subcutaneous tissue. Braz Dent J. 2011; 22(4):299-305
17. DEGROOD, M.E.; OGUNTEBI, B.R.; CUNNINGHAM, C.J.; PINK, R. A comparison of tissue reactions to Ketac-Fil and Amalgam. J Endod 1995;21: 65-9.
18. DUNN, O.J. Estimation of the means of dependent variables. Ann Math Statist. 1958; 29(4): 1095-1111.



19. Federation Dentaire International. Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials: FDI Commission of Dental Materials, Instruments, Equipment and Therapeutics. Part 4.1: subcutaneous implantation test. *Int Dent J* 1980; 30: 140-88.
20. GOMES-FILHO, J.E.; DE FARIA, M.D.; BERNABÉ, P.F.; NERY, M.J.; OTOBONI-FILHO, J.A.; DEZAN-JUNIOR, E.; DE MORAES; COSTA, M.M.; CANNON, M. Mineral trioxide aggregate but not light-cure mineral trioxide aggregate stimulated mineralization. *J Endod* 2008; 34: 62-5.
21. GOMES-FILHO, J.E.; GOMES, A.C.; WATANABE, S.; OLIVEIRA, S.H.; BERNABÉ, P.F.; PERCINOTO, C. Evaluation of tissue reaction, cell viability and cytokine production induced by Sealapex Plus. *J Appl Oral Sci.* 2011 Aug; 19(4):329-36. Epub 2011 Jun 3.
22. GOMES-FILHO, J.E.; GOMES, B.P.; ZAIA, A.A.; NOVAES, P.D.; SOUZA-FILHO, F.J. Glycol methacrylate: an alternative method for embedding subcutaneous implants. *J Endod* 2001; 27:266-8.
23. GOMES-FILHO, J.E.; WATANABE, S.; BERNABÉ, P.F.; DE MORAES COSTA, M.T. A mineral trioxide aggregate sealer stimulated mineralization. *J Endod* 2009; 35: 256-60.
24. GOMES-FILHO, J.E.; WATANABE, S.; LODI, C.S.; CINTRA, L.T.; NERY, M.J.; FILHO, J.A.; DEZAN, E. JR.; BERNABÉ, P.F. Rat tissue reaction to MTA FILLAPEX®. *Dent Traumatol* 2011 Dec 8.
25. GUTTUSO, J. Histopathologic study of rat connective tissue responses to endodontic materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1963;16:713-27.
26. HALE, R.; GATTI, R.; GLICKMAN, G.N.; OPPERMAN, L.A. Comparative analysis of carrier-based obturation and lateral compaction: a retrospective clinical outcomes study. *Int J Dent* 2012;2012:954675.
27. HOLLAND, R.; DE SOUZA, V.; NERY, M.J.; BERNABÉ, F.E.; FILHO, J.A.; JUNIOR, E.D.; MURATA, S.S. Calcium salts deposition in rat connective tissue after the implantation of calcium hydroxide-containing sealers. *J Endod* 2002;28:173-6.
28. HOLLAND, R.; DE SOUZA, V. Ability of a new calcium hydroxide root canal filling material to induce hard tissue formation. *J Endod* 1985;11:535-43.
29. HOLLAND, R.; MAZUQUELI, L.; DE SOUZA, V.; MURATA, S.S.; DEZAN, JÚNIOR. E.; SUZUKI, P. Influence of the type of vehicle and limit of obturation

- on apical and periapical tissue response in dogs' teeth after root canal filling with mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2007;33:693-7.
30. HOLLAND, R.; SOUZA, V.; MURATA, S.S.; NERY, M.J.; BERNABÉ, P.F.; OTOBONI FILHO, J.A.; DEZAN, JUNIOR. E. Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and pulp covering with mineral trioxide aggregate or Portland cement. *Braz Dent J* 2001;12:109-13.
  31. HOLLAND, R.; SOUZA, V.; NERY, M.J.; OTOBONI FILHO, J.A.; BERNABÉ, P.F.E.; DEZAN, JUNIOR. E. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. *J Endod* 1999 ;25:161-6.
  32. ISO 10993-6. Biological evaluation of medical devices. Part 6: Tests for local effects after implantation International Standard Norm, Porto, Portugal (2007).
  33. ISO 10993-7. Biological evaluation of medical devices. Part 7: Ethylene oxide sterilization residuals. International Standard Norm, Porto, Portugal (1995).
  34. LANGELAND, K.; OLSSON, B.; PASCON, E.A. Biological evaluation of Hydron. *J Endod* 1981;7:196-204.
  35. LEE, S.J.; MONSEF, M.; TORABINEJAD, M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. *J Endod* 1993;19:541-4.
  36. LEONARDO, M.R. Endodontia - Tratamento de Canais Radiculares 2008, 2v. 4ª ed. São Paulo: Artes Médicas.
  37. MIRANDA, R.B.; FIDEL, S.R.; BOLLER, M.A. L929 cell response to root perforation repair cements: an in vitro cytotoxicity assay. *Braz Dent J* 2009;20:22-6.
  38. MORSE, D.R.; MARTELL, B.; PIKE, C.G.; FANTASIA, J.; ESPOSITO, J.V.; FURST ML. A comparative tissue toxicity evaluation of Gutta-percha root canal sealers. Part I. Six-hour findings. *J Endod* 1984a;10:246-9.
  39. MORSE, D.R.; MARTELL, B.; PIKE, C.G.; FANTASIA, J.; ESPOSITO, J.V.; FURST, ML. A comparative tissue toxicity evaluation of Gutta-percha root canal sealers. Part II. Forty-eight-hour findings. *J Endod* 1984b;10:484-6.
  40. MUTOH, N.; TANI-ISHII, N. A biocompatible model for evaluation of the responses of rat periapical tissue to a new zinc oxide-eugenol sealer. *Dent Mater J* 2011;30:176-82.

41. OKAMOTO, T.; RUSSO, MC. Wound healing following tooth extraction. Histochemical study in rats. *Rev Fac Odont Araçatuba* 1973; 2:153-69.
42. ORSTAVIK, D.; MJÖR, IA.; Histopathology and x-ray microanalysis of the subcutaneous tissue response to endodontic sealers. *J Endod* 1988;14:13-23.
43. ROWE, AH. Effect of root filling materials on the periapical tissues. *Br Dent J* 1967;122:98-102.
44. SAFAVI, KE. ; SPANGBERG, L.S.; COSTA, N.S. JR.; SAPOUNAS, G. An in vitro method for longitudinal evaluation of toxicity of endodontic sealers. *J Endod* 1989;15:484-6.
45. SIEGEL, S. Nonparametric statistics. McGraw Hil, 1956
46. SPANGBERG, L.S.W. Endodontic medicaments. In: Smith DC & Williams DF, eds. *Biocompatibility of dental materials*. Boca Raton, USA CRC press, 1982:223-257.
47. TANOMARU, J.M.; LEONARDO, M.R.; TANOMARU FILHO, M.; BONETTI FILHO, I.; SILVA, L.A. Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS. *Int Endod J* 2003;36:733-9.
48. TORABINEJAD, M.; CHIVIAN, N. Clinical application of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 1999;25:197-205.
49. TORABINEJAD, M.; HONG, C.U.; MCDONALD, F.; PITT FORD, T.R. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod* 1995;21:349-53.
50. TORNECK, C.D. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. Part I. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1966; 21:379
51. TORNECK, C.D. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. Part II. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1967; 24:674
52. WÄLIVAARA, D.A.; ABRAHAMSSON, P.; ISAKSSON, S.; SALATA, L.A.; SENNERBY, L.; DAHLIN, C. Periapical Tissue Response After Use of Intermediate Restorative Material, Gutta-Percha, Reinforced Zinc Oxide Cement, and Mineral Trioxide Aggregate as Retrograde Root-End Filling Materials: A Histologic Study in Dogs. *J Oral Maxillofac Surg* 2012 Apr 19.
53. WILLERSHAUSEN, I.; CALLAWAY, A.; BRISEÑO, B.; WILLERSHAUSEN, B. In vitro analysis of the cytotoxicity and the antimicrobial effect of four endodontic sealers. *Head Face Med* 2011;7:15.

## ANEXO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



CAMPUS ARAÇATUBA  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais  
CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals

## CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Biocompatibilidade e capacidade de mineralização de cimentos experimentais comparativamente ao Pro-Root® MTA. Estudo em tecido subcutâneo de ratos"**, Processo FOA nº 2014-00656, sob responsabilidade de Luciano Tavares Angelo Cintra apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 02 de Setembro de 2014.

**VALIDADE DESTE CERTIFICADO:** 15 de Dezembro de 2014.

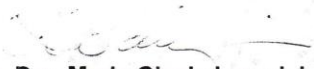
**DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL:** até 15 de Janeiro de 2015.

## CERTIFICATE

We certify that the study entitled **"Biocompatibility and biomineralization assessment of experimental sealers compared to Pro-Root MTA®. Study in the subcutaneous tissue of rats"**, Protocol FOA nº 2014-00656, under the supervision of Luciano Tavares Angelo Cintra presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on September 02, 2014.

**VALIDITY OF THIS CERTIFICATE:** December 15, 2014.

**DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT:** January 15, 2015.

  
**Prof. Dra. Maria Gisela Laranjeira**  
Coordenadora da CEUA  
CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Odontologia de Araçatuba  
Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba  
Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça - CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP  
Fone (18) 3636-3234 Email CEUA: ceua@foa.unesp.br