

RICARDO LEÃO DE OLIVEIRA

**BIOCOMPATIBILIDADE DO CIMENTO
ENDODÔNTICO AH PLUS ACRESCIDO DE
HIDRÓXIDO DE CÁLCIO EM SUBCUTÂNEO
DE RATO.**

**Tese apresentada à Universidade Federal de
São Paulo – Escola Paulista de Medicina, para
obtenção do Título de Mestre em Ciências.**

SÃO PAULO

2006

RICARDO LEÃO DE OLIVEIRA

**BIOCOMPATIBILIDADE DO CIMENTO
ENDODÔNTICO AH PLUS ACRESCIDO DE
HIDRÓXIDO DE CÁLCIO EM SUBCUTÂNEO
DE RATO.**

**Tese apresentada à Universidade Federal de
São Paulo – Escola Paulista de Medicina, para
obtenção do Título de Mestre em Ciências.**

ORIENTADOR: Prof. Dr. RENATO SANTOS DE OLIVEIRA FILHO

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. MARCELLO FABIANO DE FRANCO

Prof. Dr. HEITOR DE CARVALHO GOMES

SÃO PAULO

2006

Oliveira, Ricardo Leão

Biocompatibilidade do cimento endodôntico AH Plus acrescido de hidróxido de cálcio em subcutâneo de rato./ Ricardo Leão de Oliveira.--São Paulo, 2006.
xiv, 69f.

Tese Mestrado – Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-graduação em Cirurgia Plástica.

Título em inglês: Biocompatibility of AH Plus endodontic sealer increased of calcium hydroxide in subcutaneous of rats.

1. AH Plus. 2. Hidróxido de cálcio. 3. Cimento endodôntico.
4. Biocompatibilidade. 5. Tecido subcutâneo de Rato.

**Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina**

**Programa de Pós-Graduação em
Cirurgia Plástica**

COORDENADOR: Profa. Dra. Lydia Masako Ferreira

DEDICATÓRIAS

A Deus, pela força e coragem durante toda esta longa caminhada.

À minha esposa Danieli, pela paciência, pela força e, principalmente, pelo carinho. Valeu a pena toda distância, todo sofrimento, todas as renúncias... Valeu a pena esperar... Hoje estamos colhendo, juntos, os frutos do nosso empenho.

À minha filha Maria Eduarda, pela alegria de tê-la em minha vida.

Dedico esta, bem como todas as minhas demais conquistas, aos meus pais Gabriel e Ely e meus irmãos Rogério e Renato, pela amizade e apoio em todos os momentos de minha vida.

Ao meu sogro e à minha sogra José e Rita Mansueli e a todos os meus familiares, que sempre me acolheram em momentos difíceis.

Ao meu tio Donisetti, pela motivação, incentivos e ensinamentos em minha vida pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. RENATO SANTOS DE OLIVEIRA FILHO, Professor Orientador do Programa de Pós-graduação em Cirurgia Plástica da UNIFESP, pelo exemplo de determinação e objetividade. Agradeço pela orientação, pelo incentivo e pelos ensinamentos em minha formação docente.

À Professora Dra. LYDIA MASAKO FERREIRA, Coordenadora do Programa de Pós-graduação em Cirurgia Plástica da UNIFESP e Professora titular da disciplina de Cirurgia Plástica da UNIFESP, exemplo de competência e liderança. Agradeço pela oportunidade de participar deste programa de Pós-graduação.

Ao Professor Dr. HEITOR DE CARVALHO GOMES, Professor Orientador do Programa de Pós-graduação em Cirurgia Plástica da UNIFESP, pelas colaborações e correções realizadas na tese. Agradeço pela co-orientação prestada.

Ao Professor Dr. MARCELLO FABIANO DE FRANCO, Professor Titular do Departamento de Patologia da UNIFESP, pela disponibilidade e atenção na execução da análise morfológica e pelas correções realizadas nesta tese. Agradeço pela co-orientação, pelos exemplos e ensinamentos em minha formação docente.

Ao Professor Dr. HENRIQUE DE OLIVEIRA COSTA, Doutorando pelo Programa de Pós-graduação do Departamento de Patologia da UNIFESP, pela atenção e pelo auxílio na execução deste trabalho. Agradeço sua dedicação e ensinamentos.

Aos Professores Orientadores do Programa de Pós-graduação em Cirurgia Plástica da UNIFESP, pelas contribuições e pelos ensinamentos recebidos durante o curso de qualificação desta tese.

Aos colegas dentistas pós-graduandos do Programa de Pós-graduação em Cirurgia Plástica da UNIFESP, JOSÉ LUIS BRETOS, ANTONIO CARLOS ALOÍSE, CLAUDIA TOYAMA, RENATA BITTAR, pela amizade e pelo convívio nas reuniões e atividades.

Aos colegas do Programa de Pós-graduação em Cirurgia Plástica da UNIFESP, CARLOS EDUARDO PINFILD, FLÁVIA SCHLITTLER OLIVEIRA, RENATA VALIM, ALEXANDRE KATALINIC DUTRA, RENATA TRAJANO BORGES JORGE, pelo apoio e companheirismo nas reuniões científicas.

Aos mestres e doutores formados por este Programa de Pós-graduação em Cirurgia Plástica da UNIFESP, pelos exemplos e ensinamentos recebidos.

Às secretárias da Disciplina de Cirurgia Plástica da UNIFESP-EPM, SANDRA DA SILVA, MARTA REJANE DOS REIS e SILVANA APARECIDA COSTA, pela amizade e pelo apoio durante toda minha pós-graduação.

Aos técnicos do Laboratório de Patologias da UNIFESP, JOAQUIM SOARES DE ALMEIDA, JOÃO ANTÃO FERNANDES, pela competência no preparo laboratorial das peças, blocos e lâminas. Obrigado pelo coleguismo.

A todos os funcionários do laboratório experimental da Cirurgia Plástica da UNIFESP, que contribuíram para a realização dos procedimentos experimentais. Agradeço pela colaboração.

Ao Professor Dr. MARCO ANTONIO HÚNGARO DUARTE, Professor da disciplina de endodontia e odontologia legal da Faculdade de Odontologia de Santa Fé do Sul, pelo apoio no desenvolvimento desta tese. Agradeço pela atenção e pelos ensinamentos em minha graduação.

Ao Professor Dr. MILTON CARLOS KUGA, Professor da disciplina de endodontia e farmacologia da Faculdade de Odontologia de Santa Fé do Sul, agradeço pela amizade e pelos ensinamentos em minha graduação.

Aos Professores GUILHERME HIROSHI YAMANARI e ARNALDO SANTANA JUNIOR, Professores da disciplina de endodontia da Faculdade de Odontologia de Santa Fé do Sul, agradeço pelos ensinamentos e incentivos em minha formação.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

Dedicatória.....	iv
Agradecimentos.....	v
Lista de Figuras.....	viii
Lista de Tabelas.....	xi
Lista de Abreviaturas e Símbolos.....	xiii
Resumo.....	xiv
INTRODUÇÃO.....	01
OBJETIVO.....	03
LITERATURA.....	05
MÉTODOS.....	23
RESULTADOS.....	33
DISCUSSÃO.....	45
CONCLUSÃO.....	52
REFERÊNCIAS.....	53
NORMAS ADOTADAS.....	57
ABSTRACT.....	58
APÊNDICE.....	59
FONTES CONSULTADAS.....	68
ANEXOS.....	69

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1	Bisnagas de AH Plus acrescido de Ca(OH)_2	24
Figura 2	Limas tipo K de segunda série.....	25
Figura 3	Tubos de silicone para inoculação dos materiais.....	25
Figura 4	Tricotomia e demarcação da área de implantação dos tubos.....	27
Figura 5	Incisão de aproximadamente 4 mm de extensão.....	27
Figura 6	Implantação do tubo após divulsão.....	27
Figura 7	Sutura com fio de nylon 4-0.....	27
Figura 8	Localização do tubo e dissecação da peça.....	28
Figura 9	Peça contendo o tubo fixada em cortiça.....	28
Figura 10	Retirada dos fragmentos perpendicularmente às extremidades do tubo.....	28
Figura 11	Bloco de parafina.....	29
Figura 12	Lâminas coradas com H. E. a esquerda e T. M. a direita.....	29
Figura 13	Gráticula constituída de 100 quadrículos totalizando área de $6,25 \text{ mm}^2$	30

Figura 14	Região selecionada próxima à embocadura dos tubos para leitura microscópica dos 5 campos.....	31
Figura 15	Grupo I - Linfócitos e neutrófilos (400x).....	34
Figura 16	Grupo I – Plasmócitos (400x).....	34
Figura 17	Grupo I – Neoformação vascular e partículas dos materiais (100x).....	35
Figura 18	Grupo I - Partículas dos materiais e histiócitos (400x).....	35
Figura 19	Grupo I - Mastócitos (400x).....	35
Figura 20	Grupo II – Linfócitos e edema (400x).....	35
Figura 21	Grupo II – Histiócitos fagocitando partículas dos materiais (400x).....	36
Figura 22	Grupo II – Células gigantes tipo corpo estranho (400x).....	36
Figura 23	Grupo III – Linfócitos e edema (400x).....	36
Figura 24	Grupo III – Edema, neoformação vascular e ausência das partículas (100x).....	36

Figura 25	Comparação das médias do pesquisador 1 e pesquisador 2 segundo o número de linfócitos. Grupo I, grupo II e grupo III	38
Figura 26	Comparação das médias do pesquisador 1 e pesquisador 2 segundo o número de plasmócitos. Grupo I, grupo II e grupo III.....	38
Figura 27	Comparação das médias do pesquisador 1 e pesquisador 2 segundo o número de histiócitos. Grupo I, grupo II e grupo III.....	39
Figura 28	Comparação das médias do pesquisador 1 e pesquisador 2 segundo o número de células gigantes. Grupo I, grupo II e grupo III	39
Figura 29	Comparação das médias do pesquisador 1 e pesquisador 2 segundo o número de neutrófilos. Grupo I, grupo II e grupo III.....	40
Figura 30	Comparação das médias do pesquisador 1 e pesquisador 2 segundo o número de eosinófilos.....	40
Figura 31	Comparação das médias do pesquisador 1 e pesquisador 2 segundo o número de vasos sanguíneos.....	41
Figura 32	Comparação entre os grupos I, II e III segundo a quantidade de linfócitos, plasmócitos, histiócitos e células gigantes	42
Figura 33	Comparação entre os grupos I, II e III segundo o número de neutrófilos, eosinófilos e vasos sanguíneos.....	42

LISTAS DE TABELAS

TABELA I	Análise histomorfológica. Reação inflamatória crônica inespecífica nos grupos I, II, III	34
TABELA II	Número de células, vasos sanguíneos e presença ou não das partículas. Morfometria dos 5 campos realizada pelo pesquisador 1 nos animais do grupo I.....	59
TABELA III	Número de células, vasos sanguíneos e presença ou não das partículas. Morfometria dos 5 campos realizada pelo pesquisador 1 nos animais do grupo II.....	60
TABELA IV	Número de células, vasos sanguíneos e presença ou não das partículas. Morfometria dos 5 campos realizada pelo pesquisador 1 nos animais do grupo III.....	61
TABELA V	Número de células, vasos sanguíneos e presença ou não das partículas. Morfometria dos 5 campos realizada pelo pesquisador 2 nos animais do grupo I.....	62
TABELA VI	Número de células, vasos sanguíneos e presença ou não das partículas. Morfometria dos 5 campos realizada pelo pesquisador 2 nos animais do grupo II.....	63
TABELA VII	Número de células, vasos sanguíneos e presença ou não das partículas. Morfometria dos 5 campos realizada pelo pesquisador 2 nos animais do grupo III.....	64
TABELA VIII	Grau de resposta inflamatória nos grupos I (AH plus), II (AH plus + Ca(OH) ₂) e III (controle), segundo as médias de linfócitos, plasmócitos, histiócitos e células gigantes dos 2 pesquisadores.....	65

TABELA IX	Grau de resposta inflamatória nos grupos I (AH plus), II (AH plus + Ca(OH) ₂) e III (controle), segundo as médias de neutrófilos, eosinófilos e vasos sangüíneos dos 2 pesquisadores.....	66
TABELA X	Grau de resposta inflamatória nos grupos I (AH plus), II (AH Plus + Ca(OH) ₂) e III (controle), segundo valores de linfócitos, plasmócitos, histiócitos, células gigantes, neutrófilos, eosinófilos e vasos sangüíneos. Média dos resultados dos 2 pesquisadores.....	67
TABELA XI	Grupo I (AH plus), II (AH plus + Ca(OH) ₂) e III (Controle) , segundo a presença ou ausência de materiais para o pesquisador 1 e pesquisador 2.....	43-44

LISTA DE ABREVEATURAS E SÍMBOLOS

ANOVA	Análise de variância
CEDEME	Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CG	Células gigantes
CRCS	Calcibiotic Root Canal Sealer
ED	Edema
ET	Embocadura dos tubos
H	Histiócitos
H E	Hematoxilina e Eosina
L	Linfócitos
M	Mastócitos
N	Neutrófilos
NS	Não significante
NV	Neoformação vascular
P	Plasmócitos
PM	Partículas dos materiais
PMCC	Paramonoclorofenol canforado
T M	Tricrômico de Masson

RESUMO

Introdução: No tratamento dos canais radiculares, todas as fases devem ser consideradas atos operatórios independentes. Atenção maior tem sido dada a uma resposta biológica pós - tratamento. Embora, o AH Plus apresente boa resposta biológica em relação aos tecidos apicais e periapicais, os cimentos à base de hidróxido de cálcio são, ainda, a primeira escolha nos casos em que tolerância, reparação e ação antimicrobiana nesses tecidos são desejadas. Portanto, levando em consideração as excelentes propriedades físico-químicas do AH Plus, achou-se oportuno a realização de estudo biológico para confirmar se o acréscimo de hidróxido de cálcio proporcionaria melhora da biocompatibilidade do produto. **Objetivo:** Determinar a biocompatibilidade do cimento endodôntico AH Plus acrescido de hidróxido de cálcio a 5% em peso. **Métodos:** Foram utilizados 30 ratos distribuídos em 3 grupos de 10 animais. Tubos de silicone contendo os materiais em teste foram implantados, um por animal, no subcutâneo do dorso: Grupo I – animais implantados com tubos contendo AH Plus puro; Grupo II – contendo AH Plus acrescido de hidróxido de cálcio e Grupo III – tubos vazios (controle). A biocompatibilidade foi determinada pela análise quali e quantitativa da reação inflamatória. **Resultados:** O tecido adjacente ao tubo evidenciou processo inflamatório crônico inespecífico, qualitativamente semelhante nos três grupos experimentais. Quantitativamente, os animais implantados com o cimento acrescido de hidróxido de cálcio 5% em peso apresentaram reação inflamatória menos intensa que o grupo implantado com o cimento puro. **Conclusão:** O acréscimo de 5% em peso de hidróxido de cálcio ao cimento endodôntico AH Plus promove melhor biocompatibilidade do que o AH Plus puro em tecido subcutâneo de rato.

INTRODUÇÃO

A endodontia moderna traz avanços tecnológicos que permitem maior índice de sucesso no tratamento dos canais radiculares.

Nas mais diversas áreas de pesquisa, profissionais que atuam nesse setor da odontologia procuram melhorar seus conhecimentos e otimizar suas atuações, bem como dos materiais e instrumentais utilizados.

A eliminação dos microorganismos dos canais radiculares por meio de instrumentação e irrigação é essencial para minimizar chances de falha na terapia endodôntica (TANOMARU et al., 2003; ERTUGRUL et al., 2004). A atividade antimicrobiana dos cimentos obturadores de canal radicular, que contêm substâncias como paraformaldeído, eugenol e timol, ajuda a destruir os remanescentes microbianos dos canais radiculares. Por outro lado, a grave toxicidade desses cimentos obturadores talvez seja a razão da destruição dos tecidos periapicais, abolindo os efeitos benéficos das propriedades anti-sépticas desses materiais (SCHWEIKL, SCHMALZ, FEDERLIN, 1998; LEONARDO, et al., 1999).

Continua a busca por cimento endodôntico que preenche as propriedades físico-químicas ideais, como vedamento, radiopacidade, tempo de trabalho e escoamento, assim como propriedades biológicas. Há aumento na procura de materiais que exerçam efeitos que estimulem o processo de reparação, possuindo função biológica na cura das lesões periapicais. O hidróxido de cálcio tem sido acrescentado aos cimentos e cones de guta-percha devido aos seus efeitos biológicos, agindo nos tecidos, promovendo pH alcalino e liberando íons cálcio, com efeitos

bioquímicos que resultam na aceleração do processo de reparo dos tecidos apicais e periapicais (OLIVEIRA et al., 1980; DUARTE, DEMARCHI, MORAES, 2004).

ESTRELA & HOLLAND (2003), estudando propriedades do hidróxido de cálcio, mostraram que a manutenção de alta concentração de íons hidroxila pode alterar a atividade enzimática bacteriana e promover sua inativação. O sítio de ação dos íons hidroxila e cálcio incluem enzimas presentes na membrana citoplasmática. Esta medicação tem largo espectro de ação, que independe da capacidade metabólica dos microrganismos. Como as membranas citoplasmáticas são similares, a despeito das características morfológicas, tintoriais e respiratórias dos microrganismos, essa medicação atua de forma similar sobre bactérias aeróbias, anaeróbias, Gram-positivas e Gram-negativas.

Considerando as propriedades físico-químicas dos cimentos obturadores de canais radiculares, destacam-se aqueles à base de resinas plásticas (TIMPAWAT et al., 2001). Recentes estudos com o cimento AH Plus vêm mostrando excelentes resultados (AZAR et al., 2000; KOPPER et al., 2003; MCMICHEN et al., 2003; SCHAFER & ZANDBIGLARI, 2003).

Embora o AH Plus apresente boa resposta biológica (LEONARDO et al., 2003; XU et al., 2005), os cimentos à base de hidróxido de cálcio ainda são a primeira escolha nos casos em que tolerância, reparação e ação antimicrobiana nos tecidos apicais e periapicais são desejadas (BARBOSA, ARAKI, SPANGBERG, 1993; SIQUEIRA, FRAGA, GARCIA, 1995; BERBERT et al., 2002; HUANG et al., 2002; MILETIC et al., 2005).

Recente estudo *in vitro* mostrou que a adição de 5% e 10% de hidróxido de cálcio em peso ao cimento AH Plus determinou maior liberação de íons cálcio e pH mais alcalino (DUARTE, DEMARCHI, MORAES, 2004).

No entanto, não há na literatura trabalho que comprove que o acréscimo de hidróxido de cálcio ao cimento AH Plus pode melhorar seu comportamento biológico.

Partindo da hipótese de que o hidróxido de cálcio é substância que estimula o reparo e alicerçado no trabalho de DUARTE, DEMARCHI, MORAES, (2004) é oportuno a realização de estudo biológico para confirmar se este acréscimo de hidróxido de cálcio proporciona melhora da biocompatibilidade do cimento AH Plus.

OBJETIVO

Determinar a biocompatibilidade do cimento endodôntico AH Plus acrescido de hidróxido de cálcio a 5% em peso.

LITERATURA

PROPRIEDADES FÍSICAS DOS CIMENTOS ENDODÔNTICOS

ZMENER et al. (1997) avaliaram níveis de infiltração apical do AH Plus, cimento à base de resina plástica. Utilizando como controle o AH26 cimento convencional já testado anteriormente, prepararam biomecanicamente o canal radicular de 72 dentes unirradiculares usando a técnica *stepback* antes da condensação lateral da guta percha com os dois cimentos em estudo. Os dentes foram imersos em 5% do corante azul de metileno durante o período de 2, 4 e 10 dias. As raízes foram seccionadas longitudinalmente para que a extensão da penetração do corante pudesse ser mensurada com estereoscópio. A extensão média em 2 dias foi de 0,4 mm para o AH26 e de 1,4 mm para o AH Plus. Nenhum dos cimentos produziu selamento apical completo e a infiltração do corante aumentou no decorrer dos outros dias. As diferenças entre os períodos observados, assim como a penetração do corante entre os respectivos materiais foram estatisticamente significantes (ANOVA) $P < 0,005$.

WHITWORTH & BOURSIN (2000) analisaram a solubilidade dos cimentos endodônticos expostos a solventes comumente usados em retratamento de canais radiculares. O estudo testou a hipótese de que os cimentos obturadores de canais radiculares são insolúveis em solventes voláteis como o clorofórmio e halotano. Uma amostra padrão de (n=5) de cimentos à base de ionômero de vidro (Ketac-Endo), óxido de zinco e eugenol (Tubli-Seal EWT), hidróxido de cálcio (Apexit) e resina epóxica

(AH Plus), foram imersos em clorofórmio e halotano pelos períodos de 30 seg., 1, 2, 5 e 10 min. A média da perda de peso foi anotada e comparada com o tempo de exposição e as diferenças no comportamento entre os múltiplos pares *T-test*($P < 0,01$). Comparando as classes de materiais estudadas, o Ketac-Endo foi o menos solúvel dos cimentos em clorofórmio e halotano ($P < 0,001$), com a menor perda de peso após 10 minutos de exposição em um ou outro solvente. O Apexit teve baixa solubilidade, com (11,6% e 14,2%) de perda de peso após 10 min. de exposição em clorofórmio e halotano, respectivamente. As diferenças entre os solventes não foram significantes ($P > 0,01$). Tubli-Seal EWT foi significativamente menos solúvel em halotano do que em clorofórmio (5,2% e 62,5%) de perda de peso após 10 min. de exposição. O AH Plus foi significativamente mais solúvel que todos os outros materiais em estudo, tanto em clorofórmio quanto em halotano (96% e 68%) de perda de peso após 10 min. de exposição ($P < 0,01$).

TIMPAWAT et al. (2001) compararam a infiltração bacteriana em canais radiculares obturados com três cimentos endodônticos: AH Plus, Apexit e Ketac-Endo. Foi usado *Endodontalis faecalis* como microorganismo comum nos processos biológicos para determinar a extensão de tempo necessário para a bactéria atravessar o canal radicular obturado e alcançar o ápice radicular. Setenta e cinco dentes uniradiculares e com canais retos tiveram suas coroas cortadas na junção cimento-esmalte. Os canais foram instrumentados pela técnica *stepback*. Os dentes preparados foram divididos ao acaso em 3 grupos de 19 dentes cada e outros 2 grupos com 9 dentes cada, para controle positivo e negativo. Os canais foram obturados com seus respectivos cimentos endodônticos usando a técnica da condensação lateral. Após 24 h., os dentes foram imobilizados para microcentrifugar os tubos com 2 mm do ápice radicular submersos em

infusão de caldo de *Brain Heart* em tubos de vidro para teste. A porção coronária dos canais radiculares obturados foi colocada em contato com *Endodontalis faecalis*. Os dentes foram observados, diariamente, para averiguar a infiltração bacteriana por 30 e 60 dias. Com o teste X^2 para comparação dos pares de grupos até o nível 0,05 ($p < 0,05$), não houve diferenças significantes entre Ketac-Endo e AH Plus ($p > 0,05$), mas o Apexit teve infiltração significativamente alta ($p < 0,05$) até 30 dias. Após 60 dias, não houve diferença entre Ketac-Endo e Apexit ($p > 0,05$), mas a infiltração pelo Apexit foi maior que a do AH Plus. Concluíram que o cimento à base de resina plástica parece ter maior adaptação nas paredes dos canais radiculares e ser melhor material obturador, que o cimento à base de hidróxido de cálcio, quando a infiltração coronária bacteriana foi estudada.

GIMBEL et al. (2002) avaliaram se a pasta de hidróxido de cálcio usada como obturador temporário apresentava diferenças significantes no selamento apical. Para este experimento foram selecionadas 80 raízes de dentes uniradiculares e multiradiculares extraídos, que foram cortadas na junção cimento-esmalte. Os dentes foram endodonticamente instrumentados e obturados com cimento à base de óxido de zinco e eugenol e guta-percha. Foi preparado espaço posterior desobturando o ápice radicular de 70 dentes. O experimento dentário foi dividido, ao acaso, em 4 grupos: A (30 dentes com os espaços posteriores preenchidos com a pasta de hidróxido de cálcio), B (30 dentes com os espaços posteriores sem preenchimentos), C (10 dentes como controle negativo), D (10 dentes como controle positivo). Os dentes foram armazenados em recipiente dentro de sala com temperatura umidificada, por 1 mês. Após o armazenamento, a pasta de hidróxido de cálcio do grupo A foi removida. Todos os canais foram revestidos com 2 camadas de verniz e, externamente, com cera

pegajosa, colocados em frasco de vidro contendo azul de metileno e submetidos ao vácuo por 15 min. Os dentes foram, então, armazenados por mais uma semana, sendo, a seguir, seccionados longitudinalmente pela metade. Analisou-se a penetração do corante. A média e o desvio padrão da penetração do corante, em cada grupo, foram calculados e um teste foi usado para determinar as diferenças estatísticas entre os grupos. Não se obteve diferença significativa na infiltração do corante pela coroa e nos ápices radiculares obturados entre os componentes do grupo A e do grupo B. Os autores concluíram que a pasta de hidróxido de cálcio, colocada nos espaços posteriores como obturação temporária, não modificou significativamente o selamento do ápice radicular obturado durante o período de 1 mês, pelo uso do corante de infiltração em estudo.

KOPPER et al. (2003) compararam a capacidade seladora dos cimentos endodônticos, AH Plus, Sealer 26 e Endofill em dentes pré-molares de cães. No experimento, 40 dentes pré-molares com 2 canais radiculares cada, foram submetidos à limpeza e à instrumentação. Antes da obturação, os canais foram distribuídos, ao acaso, em 3 grupos: grupo I – AH Plus; grupo II – Sealer 26; e grupo III – Endofill. Imediatamente após a obturação, a guta-percha e o cimento foram parcialmente removidos, restando somente material no terço médio apical das raízes. Os dentes foram selados, temporariamente, com cimento de ionômero de vidro por 72 h., para proteger o ambiente. O selamento coronário foi removido e os canais foram expostos na cavidade oral por 45 dias. Os animais foram sacrificados e seus mandibulares e maxilares foram removidos. Após abundante irrigação com água destilada, os canais foram secados e preenchidos com tinta Índia. Os dentes foram selados por 96 h. antes da extração. Os canais dos pré-molares extraídos foram separados e armazenados em tubos de teste etiquetados. Após a limpeza dos canais, a

extensão da penetração do corante foi medida com estereoscópio com lentes de aumento de 20 X. A análise estatística revelou que existiram significantes diferenças entre os cimentos estudados ($P < 0,001$). As médias para extensão da penetração do corante para os cimentos AH Plus, Endofill e Sealer 26 foram, respectivamente, 0,13, 2,27 e 3,08 mm. Os autores concluíram que, após 45 dias de exposição na cavidade oral, nenhum dos cimentos foi capaz de impedir a infiltração e a penetração coronária do corante. E que ocorreu significativa diferença na média da penetração do corante entre os cimentos estudados.

MCMICHEN et al. (2003) realizaram estudo comparando propriedades físicas de 5 cimentos endodônticos. Nesse estudo, avaliaram solubilidade, película de espessura, escoamento, tempo de presa e tempo de trabalho dos cimentos Roth 801, Tubli-Seal EWT, AH Plus, Apexit e Endion. A solubilidade foi determinada medindo a modificação do peso do modelo padrão após período de 12 semanas em água deionizada destilada. A película de espessura dos cimentos foi determinada pela distância entre as lâminas de vidro contendo quantidade padrão pesada. O escoamento foi avaliado pela completa extrusão dos cimentos por orifício de diâmetro padrão, após uma unidade de tempo. O tempo de trabalho foi marcado quando o grau de fluidez diminuiu em 10%. O tempo de presa foi identificado com agulha de Guilmore modificada. Os valores da solubilidade, em ordem crescente, foram: AH Plus < Tubli-Seal EWT < Endion < Apexit. Somente o AH Plus teve o teste da película de espessura bem estabelecido. Todos os cimentos comparados mostraram escoamentos proporcionais. O tempo de trabalho variou de 50 min pelo Endion até 2 h para o AH Plus e Tubli-Seal EWT. Em relação ao tempo de presa, o menor foi de 70 min para o Tubli-Seal EWT e o maior de 8 dias para o Roth 801.

SCHAFFER & ZANDBIGLARI (2003) compararam a densidade de 8 tipos de cimentos de canais radiculares diferentes em água e saliva artificial e pH diferentes. Em amostra padronizada de $n = 12$ por grupo, modelos de anéis foram preenchidos com cimento de resina epóxica (AH26 e AH Plus), silicone (RSA RoekoSeal), hidróxido de cálcio (Apexit e Sealapex), óxido de zinco e eugenol (Aptal-Harz), ionômero de vidro (Ketac-Endo) e à base de policetona (DiaKet). As amostras foram imersas em água bidestilada e em saliva artificial com valores de pH diferentes (7,0, 5,7 e 4,5) pelo tempo de 30 seg, 1, 2, 5, 10, 20 min, 1, 2, 10, 24, 48, 72 h, 14 e 28 dias. Metade da perda do peso foi determinada e analisada estatisticamente, usando método ANOVA e o teste *Student-Newman-Keuls* para as duas formas comparativas. A maior parte dos cimentos foi de baixa solubilidade, embora o Sealapex, Aptal-Hartz e Ketac-Endo mostraram marcante perda de peso em todos os líquidos. Comparando após 28 dias de armazenamento em água os cimentos AH26, AH Plus, RSA RoekoSeal e Diaket mostraram perda de peso menor do que 3%. Em tempo maior de exposição do que 14 dias, o Sealapex mostrou significativamente a maior perda de peso entre todos os cimentos testados ($P < 0,05$). Aptal-Hartz e Ketac-Endo foram significativamente mais solúveis em saliva e pH 4,5 do que em água ($P < 0,05$). No presente estudo, o AH Plus mostrou a menor perda de peso entre todos os cimentos testados, independente do meio solúvel usado. Sealapex, Aptal-Hartz e Ketac-Endo tiveram marcante perda de peso em todos os líquidos.

XU et al. (2005) propuseram novo método quantitativo para avaliar a infiltração endodôntica. Para este estudo, 80 dentes superiores anteriores de humano com raízes retas foram divididos em 3 grupos experimentais, contendo 20 amostras cada e 2 grupos controle, contendo 10 dentes cada. A

porção coronária de cada dente foi eliminada e o tecido pulpar removido. Depois de determinado o comprimento de trabalho, o batente apical foi preparado, os dentes foram instrumentados e irrigados com 2 ml de hipoclorito de sódio a 2,5%. Em seguida, a *Smear Layer* foi removida com 10 ml de EDTA a 17% e 10 ml de hipoclorito de sódio a 2,5%. Para a obturação, foi utilizada a técnica condensação lateral da guta-percha com os cimentos, Pulp Canal Sealer EWT, Sealapex e AH Plus. Pelo novo teste de infiltração, foi injetado pela porção coronária 1 mol/l de solução de glicose forçada sob pressão hidrostática de 1,5 kPa em direção à porção apical das raízes. A infiltração foi medida pela concentração da glicose infiltrada na reserva apical após 1, 2, 4, 7, 10, 15, 20 e 30 dias, pelo método enzimático da glicose oxidase. Nenhuma diferença significativa da capacidade seladora foi encontrada entre os 3 grupos testados no período de 1, 2, 4 e 7 dias. A partir do 10º dia, o Pulp Canal Sealer EWT apresentou elevada infiltração, sendo que as infiltrações com o Sealapex e AH Plus não tiveram diferenças significantes. O método quantitativo utilizado mostrou ser sensível, não destrutivo e clinicamente relevante.

PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DOS CIMENTOS ENDODÔNTICOS

OLIVEIRA et al. (1980) avaliaram se a adição de hidróxido de cálcio ao cimento AH-26 melhorava a compatibilidade biológica do mesmo. Para testá-la, a pasta de hidróxido de cálcio, o cimento AH-26 puro e os oriundos das misturas de 5, 10, 20, e 40% de hidróxido de cálcio ao pó do AH-26 foram veiculados em tubos de polietileno-glicol e implantados no tecido subcutâneo de ratos. Após, 8, 30 ou 60 dias, o bloco de tecido

receptor foi colhido e processado para exames histopatológicos. Pelas análises descritivas, histográficas e de variância não paramétrica de KRUSKAL WALLIS e de acordo com as proposições pré-estabelecidas, foi possível concluir:

1- A disposição dos materiais em ordem decrescente de compatibilidade biológica é: 1º- pasta aquosa de hidróxido de cálcio; 2º- cimento oriundo do AH-26 contendo 5% de hidróxido de cálcio ao pó; 3º - cimento oriundo do AH-26 contendo 20 e 40% de hidróxido de cálcio ao pó; 4º - cimento AH-26 cimento AH-26 puro e oriundo dele contendo 10% de hidróxido de cálcio ao pó.

2- Há indícios de que a pasta aquosa de hidróxido de cálcio e os cimentos originados do AH-26, contendo 20% e 40% de hidróxido de cálcio ao pó induzem à calcificação ectópica.

3- A magnitude das reações histopatológicas ante o cimento AH-26 e seus derivados, contendo hidróxido de cálcio, guarda relação direta com a quantidade de partículas negras e opacas em microscopia comum, dispersadas no tecido e provenientes do pó desses cimentos.

BARBOSA et al. (1993) avaliaram efeitos tóxicos de alguns cimentos endodônticos modificados, Fillcanal, N-Richert, FS e Sealer 26. A citotoxicidade dos materiais foi medida através do método de liberação de radiocromo no contato direto e indireto. Os cimentos foram avaliados em pouco tempo e, após vários espaços de tempo, células (L929) de ratos e células fibroblásticas do ligamento periodontal foram usadas na avaliação da toxicidade. Os resultados mostraram que os cimentos Fillcanal, N-Richert e FS mostraram alta toxicidade. O cimento endodôntico Sealer 26, à base de hidróxido de cálcio, foi o menos citotóxico.

FUSS et al. (1997) avaliaram a atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos contendo hidróxido de cálcio, Sealapex (SA) e CRCS, em comparação com cimento à base de óxido de zinco e eugenol (Roth's cements). Os cimentos foram misturados de acordo com a instrução do fabricante e colocados na parede lateral de recipiente profundo. Uma suspensão de 10 ml de *Enterococcus Faecalis* foi colocada na superfície dos cimentos por 1 h, 24 h e 7 dias após as misturas. Bactérias foram colocadas em contato com os cimentos por 1 h, a 37°C. Decorrido esse tempo, foi adicionado novo meio e o crescimento bacteriano foi medido a cada 30 min por 16 horas. Após 1 hora da mistura, CRCS e Roth's cements tiveram efeito antimicrobiano significativamente melhor que o Sealapex. Em 24 h após a mistura, o Roth's cements mostrou maior potência antimicrobiana do que os cimentos contendo hidróxido de cálcio, enquanto que o Sealapex mostrou melhor efeito antimicrobiano após o 7º dia da mistura. A atividade antimicrobiana de cada cimento variou, diferentemente, com o intervalo de tempo entre a mistura e o teste, sugerindo diferentes propriedades físico-químicas e diversas potencialidades de aplicação clínica.

SILVA et al. (1997) avaliaram pH, condutividade e concentração do íon cálcio nos cimentos Sealapex, CRCS, Sealer 26 e Apexit, pela medição da condutividade e do pH e por espectrofotômetro de absorção de condutividade atômica.

Amostras de 6 mm de diâmetro e 15 mm de espessura foram preparadas com esses cimentos. Depois de colocados e armazenados por 48 h em dessecador, cinco amostras de cada material foram colocadas em 50 ml de água destilada após, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 24 h e 5, 15 e 30 dias. Os resultados mostraram que o Sealapex apresentou o mais alto pH, íons cálcio e total

dos valores de cálcio ($P < 0,05$), em todos os períodos do experimento, seguido de CRCS, Apexit e Sealer 26.

GEURTSSEN et al. (1998) avaliaram a citocompatibilidade de 4 cimentos endodônticos e guta percha, comparando os ramos celulares causados por esses materiais em células permanentes (3T3) e originadas de fibroblastos do ligamento periodontal humano. Amostras de 4 cimentos endodônticos (AH26, Apexit, Sealapex e N2) e guta-percha foram misturadas em meio de cultura celular por 24 h, 5 dias, 5 dias e 24 h, respectivamente. Os efeitos citotóxicos foram avaliados pela determinação da proliferação de células permanentes (3T3) e células originadas de fibroblastos do ligamento periodontal humano, por meio de *fluorochrome propidium iodide*. Estatisticamente, nenhuma alteração celular foi induzida pela guta-percha e pelo Apexit, no entanto, em várias extrações, AH26 e Sealapex significativamente causaram moderadas ou graves inibições do crescimento celular. Graves ramos celulares foram documentados em todas as extrações do N2, o qual se mostrou significativamente diferente dos outros materiais em ambas as linhagens de células ($P < 0,05$). Mostraram que vários cimentos segregam constantemente substâncias após serem expostos em meio aquoso por longos períodos, podendo contribuir para o fracasso do tratamento.

LEONARDO et al. (1999) propuseram verificar a liberação de formaldeído por 4 cimentos obturadores de canais radiculares. Dois cimentos mais antigos (AH26 e Endomethasone) e dois cimentos recentemente estudados (AH Plus e Top Seal) foram analisados. Infravermelho e espectroscopia eletrônica foram usados para determinar o formaldeído contido nos materiais após a reação de presa. Os cimentos foram misturados, de acordo com a instrução do fabricante e permaneceram

em temperatura ambiente por 72 h, para permitir a completa reação de presa. Cinco amostras de cada cimento foram preparadas e, para imitar as condições clínicas normais, a umidade não foi controlada. A análise mostrou que os cimentos endodônticos AH26 e Endomethasone liberaram formaldeído. O AH Plus e Top Seal, de composição química semelhante, liberaram formaldeído em mínimas concentrações.

WALTIMO et al. (2001) propuseram estudo clínico e radiográfico do desempenho de 3 cimentos obturadores de canais radiculares, dois contendo hidróxido de cálcio e outro à base de óxido de zinco e eugenol. Neste estudo, 204 dentes foram submetidos a tratamento endodôntico padrão e, posteriormente, divididos em 3 grupos: grupo PS (dentes obturados com guta-percha e cimento Procosol), grupo CR (dentes obturados com guta-percha e cimento CRCS), grupo AS (dentes obturados com guta-percha e cimento Sealapex). Os resultados do tratamento foram avaliados anualmente, durante o período de 4 anos, por controle clínico e radiográfico. Para a comparação dos resultados dos grupos foi utilizado método estatístico. Mostraram que canais obturados com cimento à base de resina de silicato e hidróxido de cálcio podem auxiliar na cura das periodontites apicais e no trauma operatório mais rapidamente. No entanto, após 3 e 4 anos, os resultados para os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol, com ou sem o hidróxido de cálcio, foram adequados.

BERBERT et al. (2002) avaliaram a resposta histológica dos tecidos apicais e periapicais após tratamento dos canais radiculares de dentes de cães com necrose e periodontite apical crônica, usando 2 curativos de canais radiculares à base de hidróxido de cálcio (Calen/PMCC ou Calasept), associados a 2 cimentos endodônticos (Sealapex ou AH Plus). 78 canais radiculares foram instrumentados e irrigados com solução de

hipoclorito de sódio a 5,25%. Assim cada pasta de hidróxido de cálcio foi colocada por 30 dias como curativo. Os canais foram, então, obturados com guta-percha e a técnica da condensação lateral usando um ou outro cimento endodôntico em estudo (Sealapex ou AH Plus). Após 360 dias, os animais foram sacrificados e os dentes histologicamente preparados, cortados e corados com hematoxilina e eosina, para análise das reparações apical e periapical, em microscópio óptico. A análise estatística mostrou que os piores resultados histopatológicos foram observados no grupo pasta Calasept e cimento AH Plus, sendo que o cimento Sealapex, em todo o experimento, resultou em melhor reparo apical e periapical que o AH Plus. Os resultados da pasta Calen/PMCC, em associação com os cimentos Sealapex ou AH Plus e a pasta Calasept com o cimento Sealapex foram estatisticamente similares, mas diferentes daqueles da pasta Calasept com o cimento AH Plus. Os resultados mostraram diferenças no reparo dos tecidos apicais e periapicais dos dentes com periodontite crônica apical.

HUANG et al. (2002) propuseram avaliar a citotoxicidade de três diferentes tipos de cimentos obturadores de canais radiculares em células originadas do ligamento periodontal humano e células permanentes de *hamsters* chineses (V79). Foram estudados dois cimentos endodônticos à base de resinas plásticas (AH26 e AH Plus), três à base de óxido de zinco e eugenol (Canals, Endomethasone e N2) e um à base de hidróxido de cálcio (Sealapex). Foram misturados de acordo com a informação do fabricante, e colocados em meio de cultura por 1, 2, 3 e 7 dias. A citotoxicidade foi julgada, usando brometo de tetrazoltum em redução de ensaio nas células de origem do ligamento periodontal humano e nas células permanentes de *hamsters* chineses (V79). Mostraram que as misturas contendo cimentos endodônticos à base de resinas plásticas, óxido de zinco e eugenol e hidróxido de cálcio foram citotóxicas. O cimento à base de hidróxido de

cálcio foi o menos tóxico dentre os materiais testados em ambas as culturas celulares. A citotoxicidade, em ordem decrescente foi: N2>Endomethasone>AH26>AH Plus>Canals>Sealapex. Confirmaram que os cimentos de canais radiculares dissolvem constantemente, quando expostos a meio aquoso por extensos períodos. Materiais à base de hidróxido de cálcio, como os cimentos de canais radiculares, inicialmente, podem resultar em resposta mais favorável aos tecidos periapicais.

BERNATH & SZABO (2003) analisaram tipo e grau da reação inflamatória induzida por 4 cimentos endodônticos. Vinte e quatro canais radiculares de dentes de macacos foram obturados sem extravasamento e oito canais foram sobreobturados com os cimentos AH26, Apexit, Endomethasone ou Grossman's. Após seis meses, realizaram avaliação histológica dos tecidos periapicais. No grupo dos canais obturados sem extravasamento, nenhuma reação inflamatória foi observada nos espécimes dos cimentos Apexit e Grossman's, mas, nos cimentos AH26 e Endomethasone, ocorreram diferentes graus de resposta tecidual iniciada por linfócitos e plasmócitos. O Endometasone causou leve reação iniciada por linfócitos e plasmócitos em três dos nove casos e o cimento AH26 causou leve infiltrado de linfócitos e plasmócitos em dois dos sete casos. Nos grupos em que os canais foram sobreobturados, todos os (quatro) cimentos iniciaram reações inflamatórias. A reação dos tecidos periapicais dos canais radiculares, que foram sobreobturados, foi similar às reações detectadas nos casos de canais em que os materiais obturadores não extravasaram. Como sempre, aspectos histológicos adicionais foram desenvolvidos nos espécimes de Endomethasone e AH26. O Endomethasone iniciou reação tipo corpo estranho granulomatosa em torno das partículas de cimento e as partículas do AH26 foram englobadas por macrófagos. Os canais sobreobturados com Apexit e Grossman's iniciaram

apenas reações de linfócitos e plasmócitos. Este estudo sugere que cimentos com diferentes composições químicas iniciam diferentes respostas histológicas, enfatizando a importância de confinar a obturação radicular nos sistemas de canais, pois todos os cimentos iniciaram reações inflamatórias, quando estiveram presentes nos tecidos periapicais.

KAPLAN et al. (2003) avaliaram propriedades dimensionais e biocompatibilidade dos cimentos endodônticos Procosol, Endomethasone, AH26, Sealapex e Endion. Os cimentos foram preparados de acordo com a informação do fabricante e 0,075 ml de cada material foi colocado em superfície de vidro, qual fora virada 90°. As amostras foram armazenadas à temperatura de 37°C a 95% de umidade. O deslocamento dos cimentos foi anotado medindo a diferença entre posição original e posição marcada em 15 e 60 min após. Três amostras de cada material foram usadas. Duas bolsas foram feitas no dorso de cada rato *Wistar* e um tubo de silicone de 1 mm de diâmetro e 1 cm de comprimento foi colocado em cada bolsa. Na bolsa esquerda de cada animal, foram implantados tubos de silicone vazios como controle e, na outra bolsa, os tubos de silicone foram preenchidos com seus respectivos materiais e implantados. Decorrido o período de 40 dias após a implantação, os animais foram sacrificados e amostras da pele contendo os tubos foram processadas histologicamente. Os tecidos adjacentes à abertura final dos tubos foram analisados histológica e histomorfometricamente, de acordo com os princípios estereológicos padrão. Os resultados foram estatisticamente analisados pela análise de variância e teste de *Duncan*. Os maiores valores de escoamento foram obtidos com o Sealapex e AH26. O tempo afetou o escoamento e os materiais ($P < 0,001$). Os cimentos Procosol e Endion provocaram reações histológicas mais graves, sendo estes materiais contornados com tecido fibroso. Os cimentos AH26, Endomethasone e Sealapex produziram

reações de pequeno tamanho e com limites moderadamente mais definidos. Concluíram que o escoamento dos materiais não se correlaciona com o grau da reação inflamatória.

LEONARDO et al. (2003) verificaram a reparação apical e periapical pós-tratamento endodôntico de dentes de cães com necrose pulpar e reação periapical crônica, em que se utilizaram diferentes materiais obturadores. Foram utilizados 44 canais radiculares, nos quais, após indução das lesões periapicais, foi efetuado o preparo biomecânico, empregando-se, como solução irrigadora, solução de hipoclorito de sódio a 5,25%. Após curativo de demora com pasta à base de hidróxido de cálcio (Calen PMCC), mantida no canal radicular durante 15 dias, os canais radiculares foram obturados pela técnica clássica complementada pela condensação lateral ativa, empregando-se os cimentos Sealapex, AH Plus ou Sealer Plus. Decorrido o período de 180 dias, os animais foram sacrificados e as peças submetidas ao processamento laboratorial. Os cortes histológicos obtidos foram corados com hematoxilina-eosina. A análise histopatológica demonstrou que, nos canais radiculares obturados com os cimentos Sealapex e AH Plus, ocorreu melhor reparação ($p < 0,05$) do que nos canais obturados com o Sealer Plus, que mostrou resultados insatisfatórios.

MILETIC et al. (2003) propuseram estudar *in vitro* efeitos citotóxicos e mutagênicos dos cimentos AH26 e AH Plus. Os efeitos citotóxicos em células V79 de hamsters chineses foram determinados pela contagem das células seguidas de incubação com a mistura dos cimentos AH26 e AH Plus. Os cimentos foram manipulados de acordo com a instrução do fabricante, em condições assépticas. Em um dos grupos do experimento os materiais foram misturados e fixados por 1 h e, em seguida, misturados em dimetil sulfóxido (DMSO) por 1 h, 24 h e 7 dias. Em outro grupo, AH26 e

AH Plus foram misturados e fixados por 1 h, 24 h e 7 dias em solução salina, em seguida separada e misturada em dimetil sulfóxido (DMSO) por 24 horas. Os efeitos citotóxicos dessas misturas foram avaliados. Três concentrações foram escolhidas para examinar os efeitos mutagênicos do AH26 e AH Plus: 5,57, 16,7 e 55,7 µg/ml. As análises da modificação estrutural cromossômica e do teste de micronúcleos foram executadas em linfócitos humanos, de acordo com o procedimento padrão. Ambos os materiais mostraram ser citotóxicos para as células em doses maiores que 55,7 µg/ml, exceto pelo AH26, após o espaço de tempo de 7 dias. O AH Plus, também, mostrou ser citotóxico em concentrações de 16,7(µg/ml), exceto após o espaço de tempo de 7 dias. Nem o AH26 nem o AH Plus induziram significativo aumento na anomalia cromossômica ou induziram micronúcleos em nenhum espaço de tempo ou concentração. Concluíram que não encontraram mutagenicidade pelo AH26 e AH Plus em linfócitos humanos no alto controle das condições *in vitro*.

COBANKARA et al. (2004) avaliaram *in vitro* atividade antibacteriana de 5 cimentos endodônticos diferentes (RoekoSeal, Ketac-Endo, AH Plus, Sealapex e Sultan), usando o *Enterococcus faecalis* como microorganismo para teste. Foram aplicados dois testes: teste de difusão em ágar e teste de contato direto. Para o teste de contato direto, os cimentos foram manipulados de acordo com a instrução do fabricante e colocados na parede lateral do reservatório da *microtiter*. 10 µl de suspensão bacteriana foram colocados na amostra dos materiais testados. As bactérias foram colocadas em contato direto com os cimentos por 1 h, a 37°C. O crescimento bacteriano foi, então, medido por espectrofotômetro a cada 30 min, por período de 19 h. Para o teste de difusão em ágar, 200 µl de suspensão bacteriana foram espalhados em infusão de *Brain-Heart* em placas de ágar. Os cimentos recentemente misturados foram colocados

dentro de orifícios uniformes nos reservatórios de ágar. Após período de incubação a 37°C, por 24 h e 7 dias, em ambiente úmido, as zonas de inibição do crescimento bacteriano nas placas de ágar foram observadas e mensuradas. Os cimentos Ketac-Endo, Sultan e AH Plus tiveram resultados similares para o teste de contato direto. Estes cimentos tiveram maior potência inibitória de crescimento bacteriano que os cimentos Sealapex e RoekoSeal. No teste de difusão em ágar, o cimento RoekoSeal não mostrou atividade antibacteriana. Não houve diferenças significantes entre os cimentos AH Plus, Sealapex e Sultan ($p < 0,05$). Entre os cimentos testados, o Ketac-Endo mostrou a mais baixa atividade antibacteriana. O tempo não afetou a atividade antibacteriana dos cimentos testados ($p < 0,05$). A atividade antibacteriana de cada cimento variou de acordo com o teste usado. Concluiu-se que a técnica, o tempo e os ingredientes dos materiais testados podem afetar os resultados dos estudos microbiológicos.

DUARTE, DEMARQUE, MORAES (2004) propuseram comparar *in vitro* pH e liberação de íons cálcio contidos no cimento AH Plus puro e no AH Plus acrescido de 5 e 10% de hidróxido de cálcio. Os materiais espatulados foram armazenados e colocados em 10 tubos de 1 cm de altura e 1,5 mm de diâmetro. Após a presa, os materiais foram imersos em 20 ml de água deionizada. Dez tubos contendo óxido de zinco e eugenol foram utilizados como controle. Quatro milímetros de água foram retirados de cada frasco após 24 e 48 h e após 7, 14 e 30 dias. O pH e a liberação de íons cálcio foram registrados por medidor de pH e por espectrofotômetro de absorção atômica, respectivamente. Os resultados obtidos em cada tempo foram comparados estatisticamente. Foi registrado pH mais alcalino para o AH Plus acrescido de 5 e 10% de hidróxido de cálcio em comparação com o AH Plus puro, havendo significativa diferença entre 14 e 30 dias ($P < 0,05$). Não se obtiveram diferença significativa na liberação de

hidróxido de cálcio pelo AH Plus puro e o óxido de zinco e eugenol ($P>0,05$). A comparação entre AH Plus, contendo 10% de hidróxido de cálcio, AH Plus, contendo 5% de hidróxido de cálcio, AH Plus puro e óxido de zinco e eugenol mostrou diferenças significantes em todos os períodos de tempo ($P<0,05$). A comparação entre AH Plus contendo 5% de hidróxido de cálcio, AH Plus puro e óxido de zinco e eugenol mostrou significantes diferenças em todos os períodos avaliados ($P<0,05$). Concluíram que a adição de 5 e 10% de hidróxido de cálcio ao cimento AH Plus permitiu pH mais alcalino e maior liberação de íons cálcio.

MILETIC et al. (2005) compararam *in vitro* a citotoxicidade dos cimentos endodônticos: RoekoSeal Automix (RSA) e AH Plus, em células de carcinoma cervical humano (HeLa) e fibroblastos de pele de ratos (L929). Os cimentos foram cobertos com suspensão celular de 3×10^4 por 1 h, 24 h e 48 h e 7 dias e 1 mês após as misturas. Quatro amostras e pouca quantidade de cimento foram preparadas para seus respectivos controles. Após 5 dias de incubação, o número de células foi determinado, usando contador eletrônico, sendo o número de células viáveis determinado sob luz microscópica, seguido da adição do corante *nigrosin*. O experimento foi repetido duas vezes com cada cimento e em cada período. O cimento endodôntico AH Plus foi significativamente mais citotóxico após 1 h, 24 h e 48 h, comparado com 7 dias e com 1 mês, em ambas as linhagens celulares. O RoekoSeal não teve efeitos citotóxicos em nenhuma linhagem de células, em nenhum espaço de tempo.

MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNIFESP em 21/10/2005 sob nº1136/05.

AMOSTRA

Utilizavam-se 30 ratos (*Rattus Novervicus Albinus Wistar EPM-1*), com peso entre 200 g e 275 g, procedentes do CEDEME (Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais) da UNIFESP, distribuídos aleatoriamente em três grupos de 10 animais. No Grupo I, os tubos de silicone implantados continham em seu interior AH Plus puro. No Grupo II, os tubos continham AH Plus acrescido de 5% em peso de hidróxido de cálcio. O Grupo III, implante de tubos vazios (grupo controle). Previamente aos procedimentos, os animais permaneciam em gaiolas no laboratório experimental da Cirurgia Plástica da UNIFESP, pelo período de 48 h para adaptação.

PREPARAÇÃO DO CIMENTO

O AH Plus consiste de cimento resinoso de pasta epóxi (diepóxi; tungstênio de cálcio; óxido de zircônio; aerossol e pigmento) e pasta amina (amina 1-adamantane; N'N dibenzil-5-oxanonandiamine-1,9; TCD-diamina; tungstênio de cálcio; óxido de zircônio; aerossol e óleo de silicone). Para o acréscimo de 5% de hidróxido de cálcio em peso, o conteúdo de cada pasta era removido e pesado separadamente em balança analítica. Em seguida, acrescentava-se 5% de hidróxido de cálcio em peso em cada pasta e colocava-se dentro de novos recipientes (figura 1).



Figura 1. Bisnagas de AH Plus acrescido de Ca(OH)_2 .

Os cimentos eram manipulados de acordo com a instrução do fabricante e inoculados em tubos de silicone, medindo 3 mm de comprimento e 1,5 mm de diâmetro com o auxílio de limas endodônticas tipo K de segunda série (figura 2).

Para que não houvesse excesso de materiais, uma das extremidades do tubo era colocada perpendicularmente a uma placa de vidro estéril e preenchia-se por completo com o cimento pela outra extremidade, sem extravasamento (figura 3).

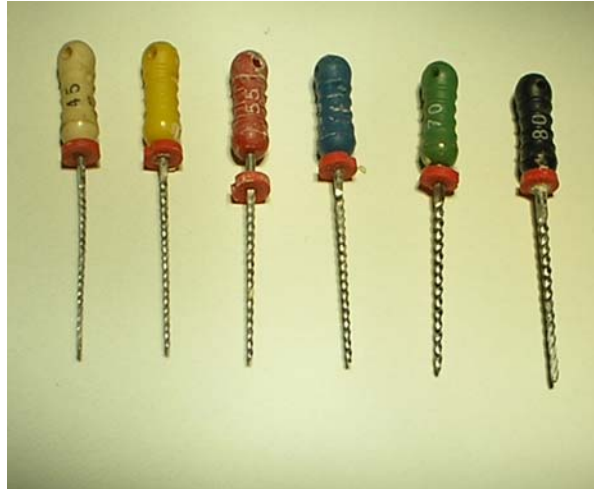


Figura 2. Limas tipo K de segunda série



Figura 3. Tubos de silicone para inoculação dos materiais

IMPLANTE E REMOÇÃO DOS TUBOS DE SILICONE

Os procedimentos com os animais (implante e remoção dos tubos de silicone) eram realizados sob anestesia. A anestesia consistia na administração intraperitoneal de 1 ml / kg de Zoletil⁵⁰ (composto de 125 mg de cloridrato de tilatamina e 125 mg de zolazepan).

Após anestesia, realizavam-se tricotomia do dorso, anti-sepsia com clorexidine alcoólico e gaze estéril e demarcação da área de implantação do tubo (figura 4). Posteriormente, realizavam-se incisão de aproximadamente 4 mm de extensão com bisturi lâmina 11, divulsão do tecido conjuntivo subcutâneo com tesoura de ponta romba, construindo loja cirúrgica de 1 cm de comprimento e implantação de um tubo por animal com seus respectivos materiais, ainda em estado pastoso (figura 5 e 6). A incisão era fechada com fio de Nylon 4-0, os animais colocados em gaiolas (um por gaiola) e mantidos vivos em condições ambientais controladas no laboratório experimental da Cirurgia Plástica da UNIFESP, alternando 12 h de luz com 12 h de escuro, alimentados com ração Purina e água *Ad libitum* (figura 7). As condições assépticas eram mantidas em todo o experimento, uma vez que os animais permaneciam vivos após implantação dos tubos.



Figura 4. Tricotomia e demarcação da área de implantação dos tubos



Figura 5. Incisão de aproximadamente 4 mm de extensão

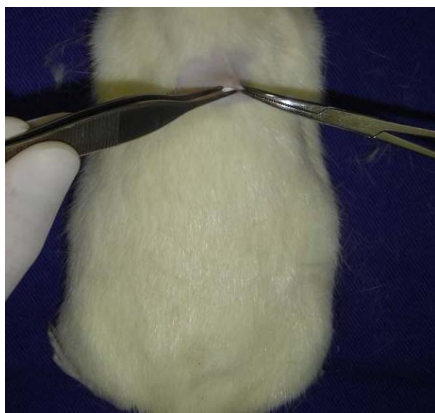


Figura 6. Implantação do tubo após divulsão



Figura 7. Sutura com fio de nylon 4-0

Transcorrido período pós – operatório de 14 dias, os animais eram novamente anestesiados, os tubos envolvidos por tecidos circunvizinhos localizados e aprisionados levemente com auxílio de pinça anatômica, não causando injurias aos tecidos que eram dissecados e retirados com 1 cm de margem peritubular, fixados em solução de formalina tamponada a 10% (figuras 8 e 9). Em seguida, os animais eram submetidos à eutanásia, com overdose do anestésico e as peças levadas ao Departamento de Patologia da UNIFESP.



Figura 8. Localização do tubo e dissecação da peça



Figura 9. Peça contendo o tubo, fixada em cortica

PREPARO MACROSCÓPICO DAS PEÇAS

No Laboratório de Patologia da UNIFESP, eram retirados dois fragmentos representativos de cada peça, perpendiculares às extremidades do tubo (figura 10). O lado dos fragmentos, que estavam em contato com o cimento, era posicionado corretamente dentro de caçapas plásticas para a confecção dos blocos em parafina.

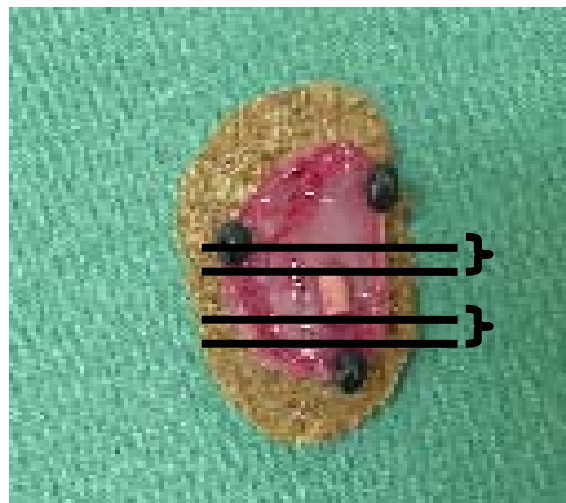


Figura 10. Retirada dos fragmentos perpendicularmente às extremidades do tubo

Para a confecção dos blocos, as peças eram mergulhadas nas seguintes substâncias com duração de uma hora cada: uma vez em solução de formalina 10%, cinco vezes em álcool absoluto para desidratação, duas vezes em xilol para diafanização, duas vezes em parafina para impregnação das estruturas teciduais e, finalmente, embebiam-se em parafina confeccionando os blocos (figura 11).



Figura 11. Bloco de parafina

Os blocos eram submetidos a cortes de 3 μm de espessura, utilizando um micrótomo devidamente calibrado, sendo que, para cada bloco eram confeccionadas duas lâminas, uma corada com Hematoxilina e Eosina (H. E.) para a avaliação histomorfológica e outra com Tricrômico de Masson (T. M.), para a identificação de vasos sanguíneos (figura 12).



Figura 12. Lâminas coradas com H. E. a esquerda e T. M. à direita

ANÁLISE MICROSCÓPICA DAS LÂMINAS

As lâminas eram lidas em microscópio óptico, marca Olympus BH-2, com lente ocular de 10 x e objetiva de 40 x, totalizando aumento de 400 x. Para determinar o grau da reação inflamatória (a qual indica a biocompatibilidade dos cimentos), estipulava-se a análise quantitativa de linfócitos, plasmócitos, neutrófilos, eosinófilos, histiócitos, células gigantes e vasos sanguíneos, assim como a presença ou não das partículas dos materiais e análise qualitativa do processo inflamatório adjacente ao tubo. O estudo quantitativo era realizado por dois pesquisadores, utilizando lente ocular de 10 x de aumento, contendo graticula quadriculada. A graticula, constituída de 100 quadrículos que mediam 0,25 mm de cada lado, totalizando uma área de $6,25 \text{ mm}^2$, era acoplada ao microscópio óptico e contavam-se somente as células e os vasos que estavam dentro dos quadrículos e que não ficavam sobrepostas as linhas dos mesmos (figura 13).

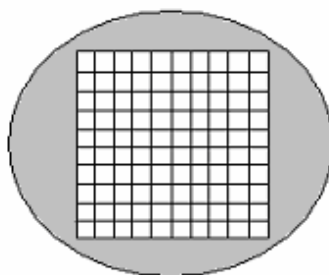
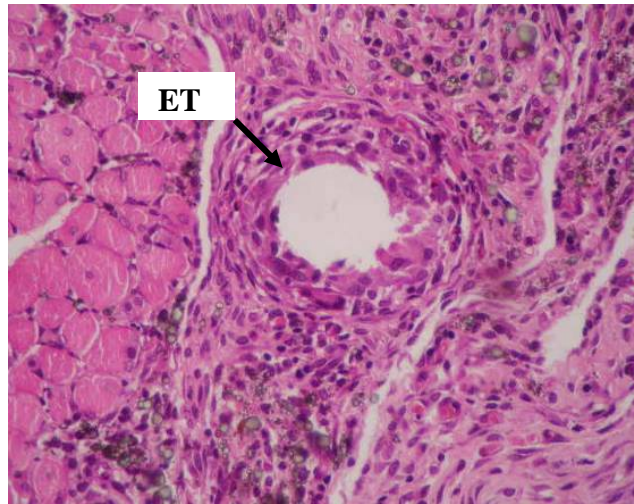


Figura 13. Graticula constituída de 100 quadrículos totalizando área de $6,25 \text{ mm}^2$

Para a leitura morfométrica, eram observados 5 campos em cada lâmina na região adjacente onde estava o tubo (figura 14).



Figuras 14. Região selecionada próximo a embocadura dos tubos (ET) para leitura microscópica dos 5 campos

A análise qualitativa era realizada por um terceiro pesquisador que observava os fenômenos celulares da reação inflamatória em toda região adjacente ao tubo. Previamente às análises morfométrica e morfológica, as lâminas eram ocultadas por um outro pesquisador que não participava da leitura microscópica, não permitindo a identificação das lâminas com os grupos experimentais correlatos (estudo às cegas).

Os valores obtidos na morfometria eram registrados e analisados estatisticamente na Disciplina de Bioestatística da UNIFESP.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise dos resultados, eram aplicados os seguintes testes:

- 1 – Teste de Wilcoxon (SIEGEL & CASTELLAN Jr, 1988) para comparar o resultado da morfometria realizado por dois pesquisadores.
- 2 – Teste do Quiquadrado (SIEGEL & CASTELLAN Jr, 1988) para comparar a presença ou ausência das partículas da substância entre os três grupos de estudo. Esta análise foi feita para cada pesquisador.
- 3 – Análise de variância de Kruskal-Wallis (SIEGEL & CASTELLAN Jr, 1988) para comparar os 3 grupos em relação aos valores médios dos resultados da morfometria, obtidos pelos dois pesquisadores.

Fixavam-se em 0,05 ou 5%, ($X \leq 0,05$) o nível de rejeição da hipótese de nulidade, assinalando-se com asterisco (*) os valores estatisticamente significantes.

RESULTADOS

ANÁLISE QUALITATIVA

O infiltrado inflamatório adjacente à região onde estava o tubo evidenciou processo inflamatório crônico inespecífico, sendo qualitativamente semelhante nos três grupos experimentais. A análise morfológica mostrou tecido de granulação, com proliferação de vasos neoformados e tecido conjuntivo com discreto edema, infiltrado inflamatório linfomononuclear e histiocitário, plasmócitos predominantemente perivasculares, presença de raros polimorfonucleares, mastócitos e granuloma tipo corpo estranho próximo as partículas dos materiais. As partículas dos cimentos estudados não foram observadas em um dos dez casos do grupo I que continha cimento AH Plus puro e em dois dos dez casos do grupo II que continham o cimento AH Plus acrescido de hidróxido de cálcio. As partículas não foram observadas em nenhum dos casos do grupo controle (grupo III). A Tabela I e as Figuras de 15 a 24 são referentes a esta análise.

Tabela I – Processo inflamatório crônico inespecífico expresso como presença

Componentes da resposta inflamatória	Grupo I 10 animais	Grupo II 10 animais	Grupo III 10 animais
Linfócitos	Presente	Presente	Presente
Plasmócitos	Presente	Presente	Presente
Histiócitos	Presente	Presente	Presente
Células gigantes	Presente	Presente	Presente
Eosinófilos	Presente	Presente	Presente
Neutrófilos	Presente	Presente	Presente
Mastócitos	Presente	Presente	Presente
Vasos neoformados	Presente	Presente	Presente
Partículas dos materiais	Presente em 9 animais	Presente em 8 animais	Ausente em 10 animais

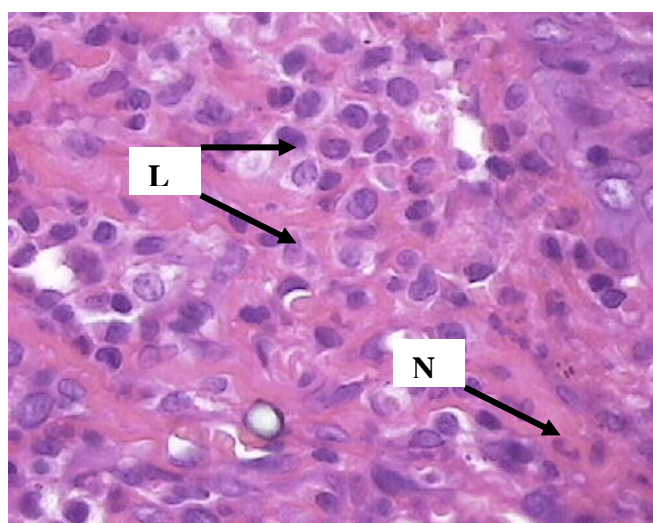


Figura 15. Grupo I – Linfócitos (L) e Neutrófilos (N), (400x)

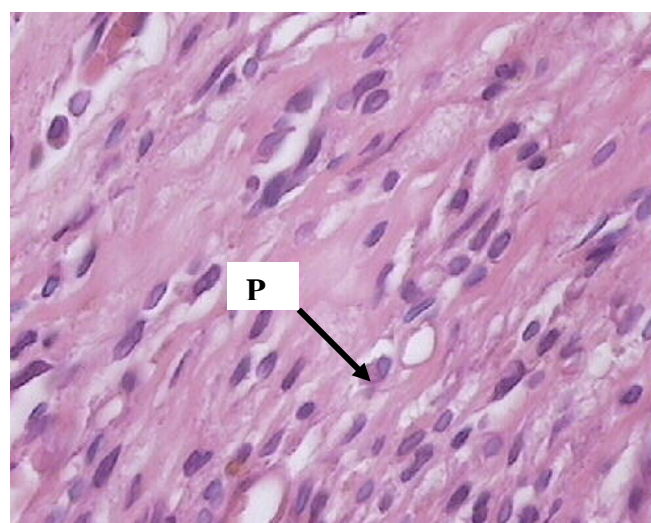


Figura 16. Grupo I – Plasmócitos (P) (400x)

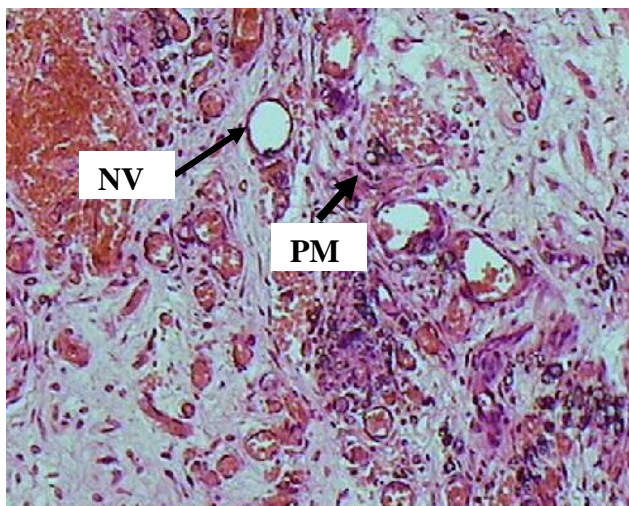


Figura 17. Grupo I – Neoformação vascular (NV) e partículas dos materiais (PM), (100x)

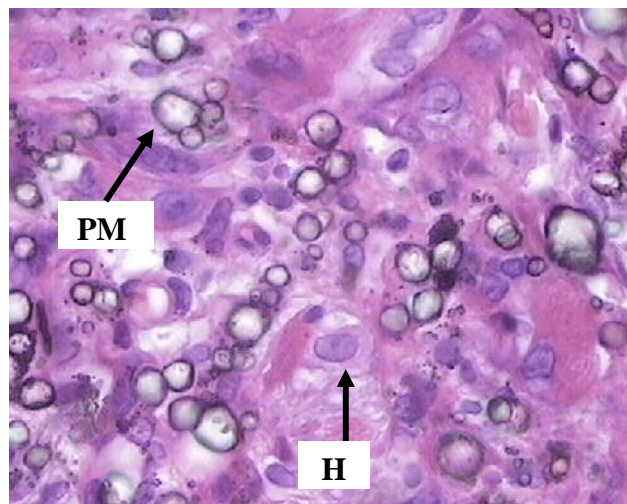


Figura 18. Grupo I – Partículas dos materiais e histiócitos (H) (400x)

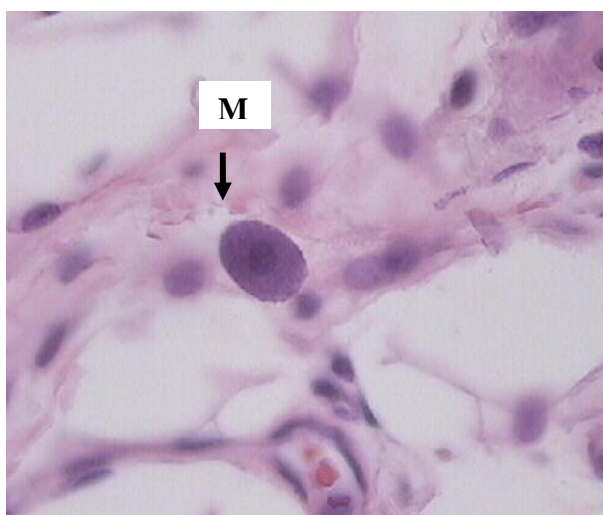


Figura 19. Grupo I – Mastócitos (M), (400x)

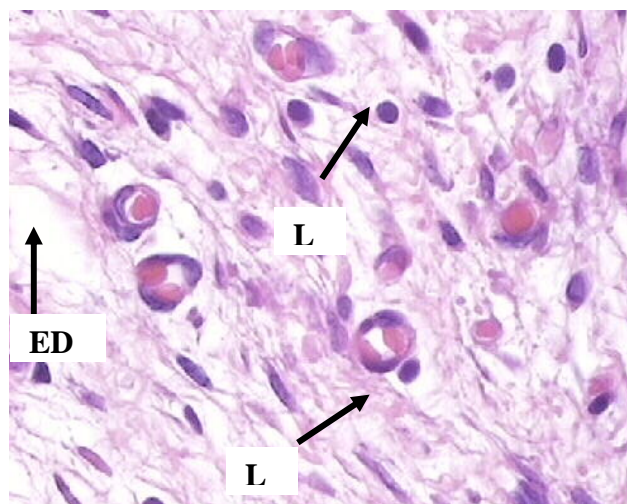


Figura 20. Grupo II – Linfócitos (L) e edema (ED) (400x)

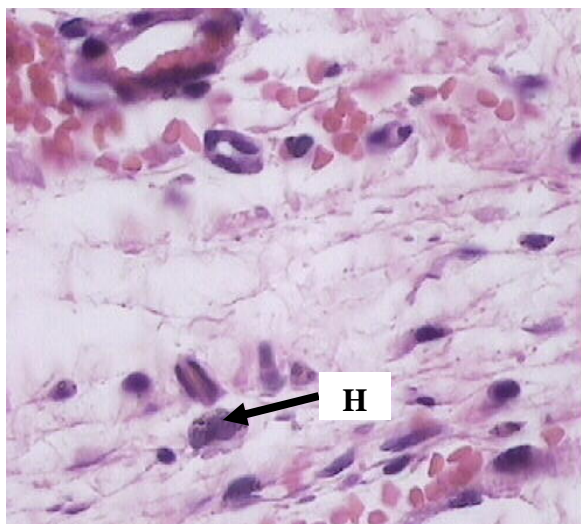


Figura 21. Grupo II – Histiócitos fagocitando partículas dos materiais (400x)

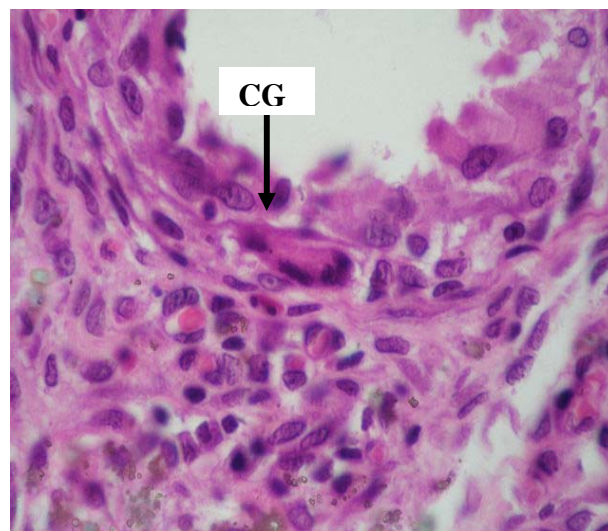


Figura 22. Grupo II – Células gigantes (CG) tipo corpo estranho (400x)

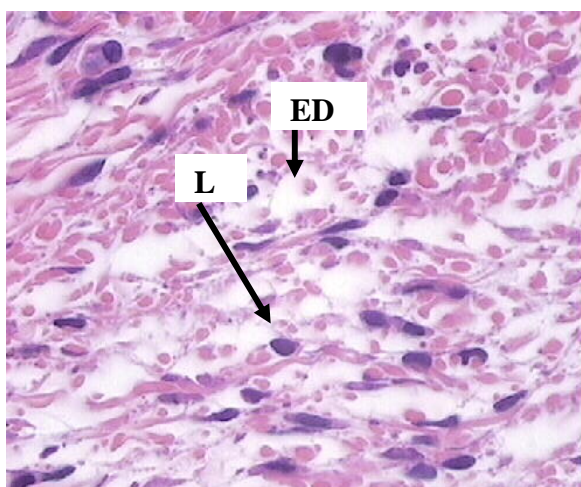


Figura 23. Grupo III – Linfócitos e edema (400x)

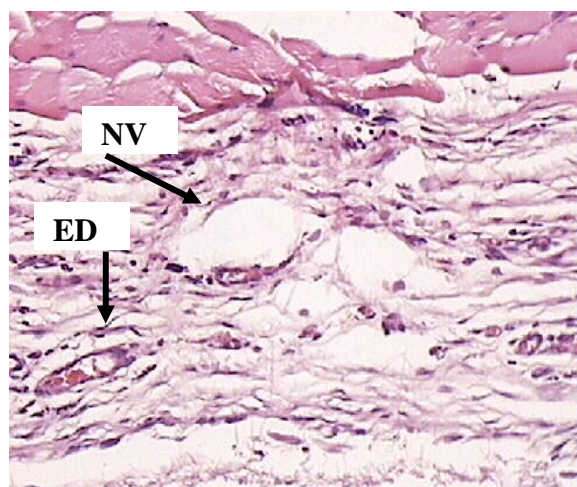


Figura 24. Grupo III – Edema, neoformação vascular e ausência das partículas (100x)

ANÁLISE QUANTITATIVA

Nos cinco campos, os elementos da reação inflamatória (linfócitos, plasmócitos, histiócitos, células gigantes, neutrófilos, eosinófilos e vasos sanguíneos) foram quantificados e, em seguida, realizada a média da contagem. As Tabelas II - VII contêm os dados dessa contagem. As médias do pesquisador 1 foram comparadas com a do pesquisador 2, aplicando o teste de Wilcoxon. Entre os elementos comparados, a quantidade de neutrófilos obtidos pelo pesquisador 1 no grupo I (AH Plus puro) foi maior que a obtida pelo pesquisador 2.

Os demais componentes celulares analisados não apresentaram diferenças estatísticas significantes em nenhum dos três grupos (I, II, III). As Figuras de 25 a 31 e as Tabelas VIII e IX (Apêndice) são referentes aos resultados dessa análise.

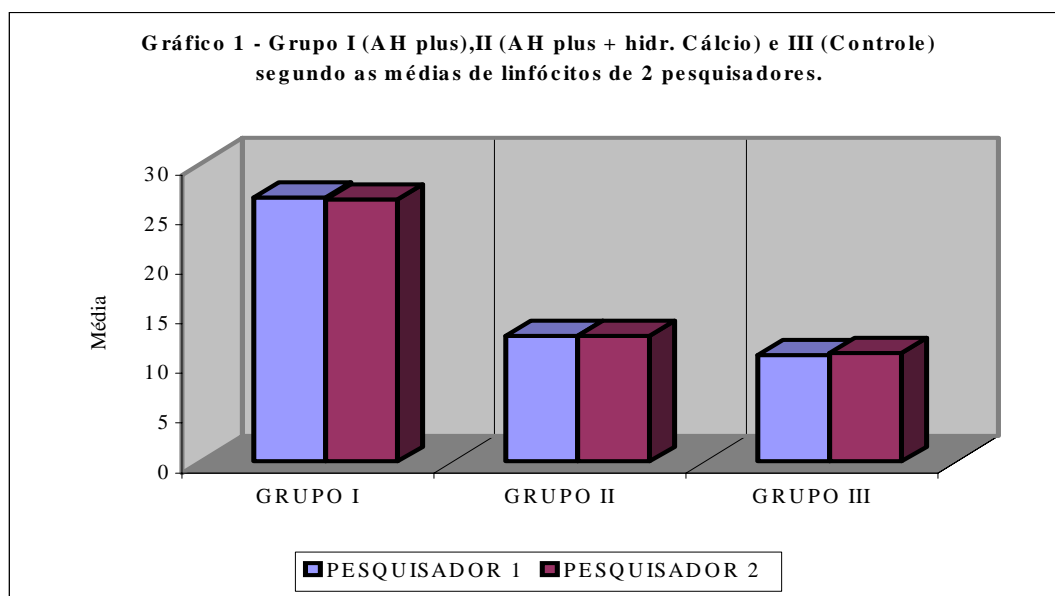


Figura 25. Comparação das médias do pesquisador 1 e pesquisador 2 segundo a quantidade de linfócitos. Grupo I, grupo II e grupo III sem diferenças estatísticas significantes.

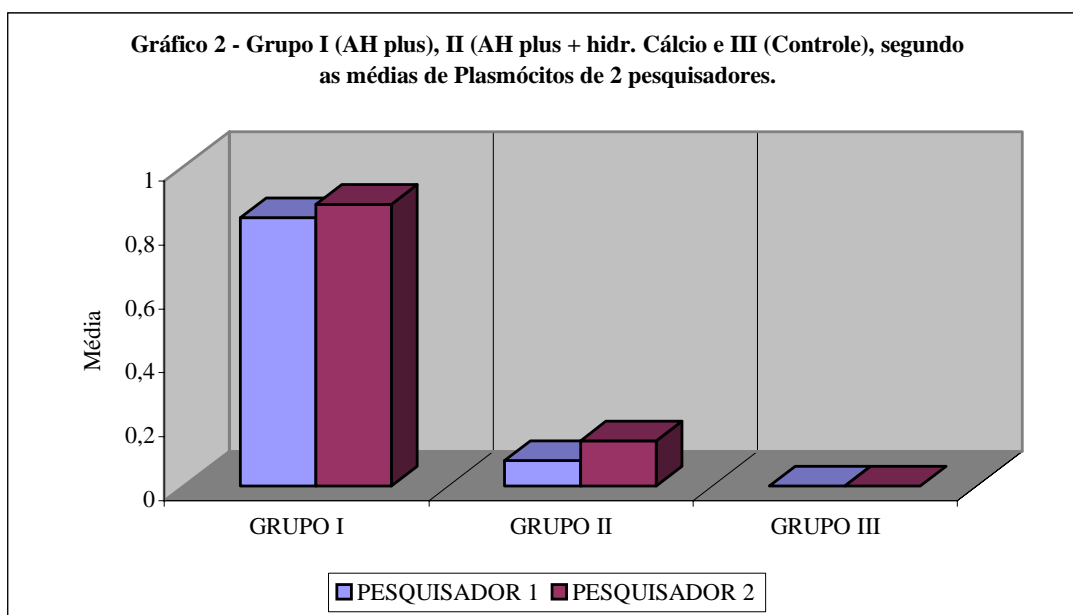


Figura 26. Comparação das médias do pesquisador 1 e pesquisador 2 segundo a quantidade de plasmócitos. Grupo I, grupo II e grupo III sem diferenças estatísticas significantes

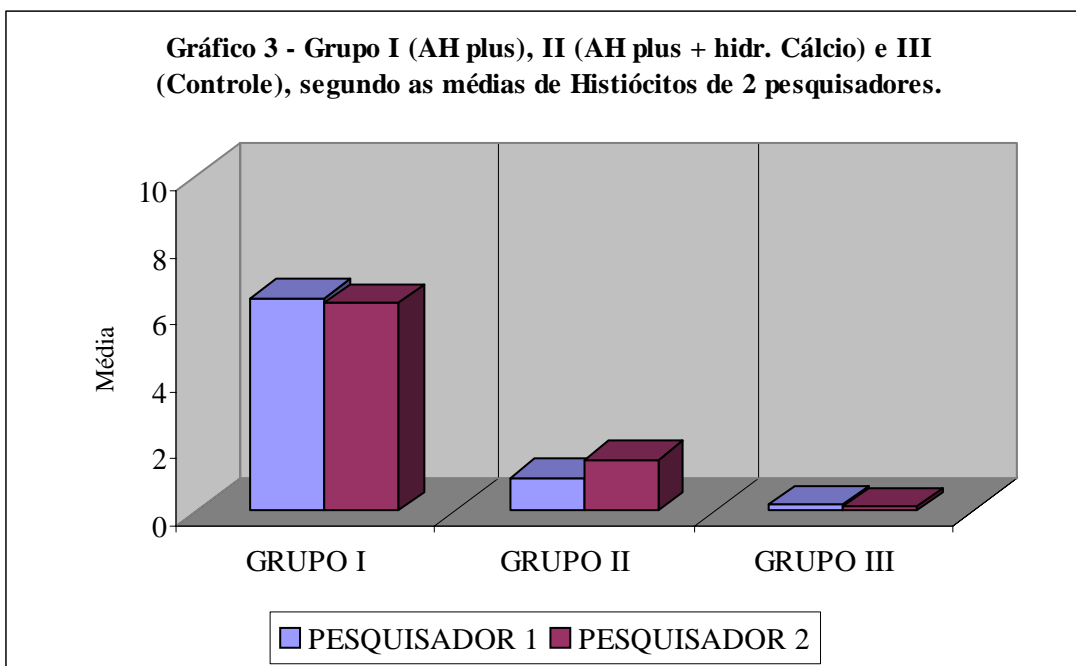


Figura 27. Comparação das médias do pesquisador 1 e pesquisador 2 segundo a quantidade de histiócitos. Grupo I, grupo II e grupo III sem diferenças estatísticas significantes

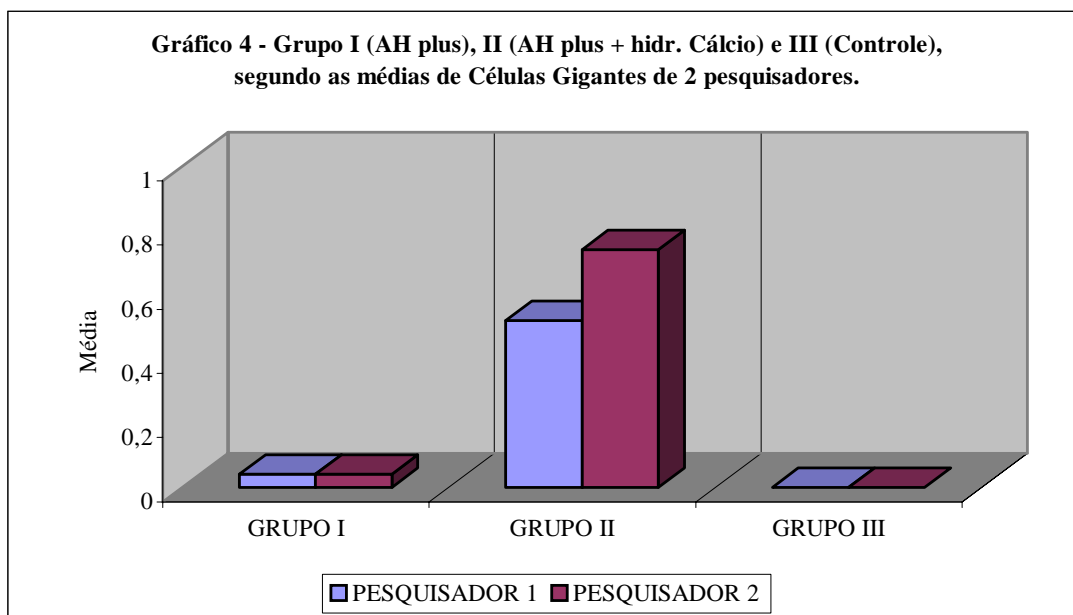


Figura 28. Comparação das médias do pesquisador 1 e pesquisador 2 segundo a quantidade de células gigantes. Grupo I, grupo II e grupo III sem diferenças estatísticas significantes

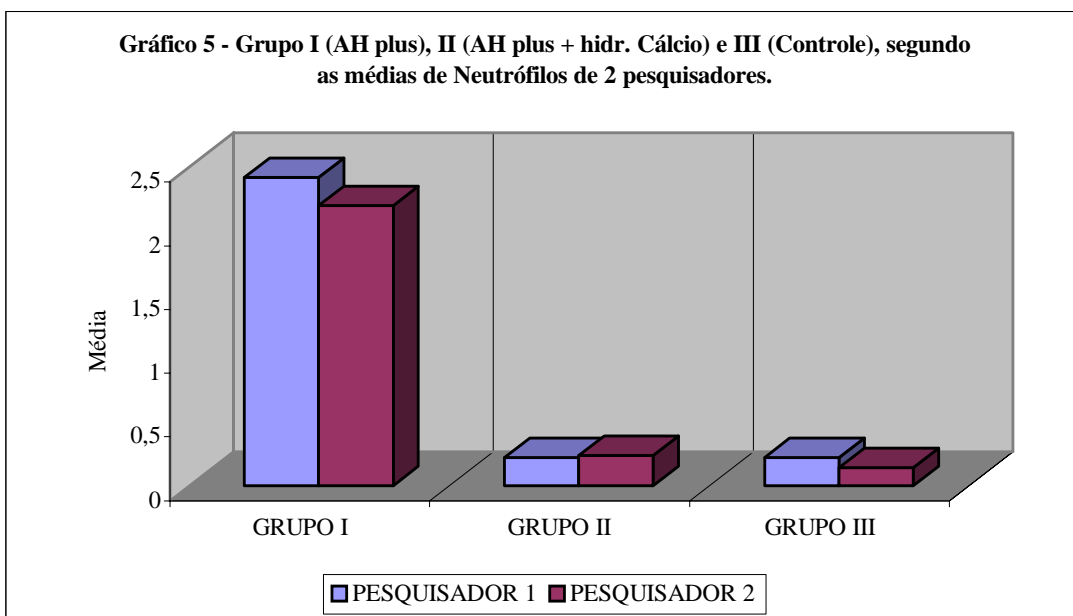


Figura 29. Comparação das médias do pesquisador 1 e pesquisador 2 segundo a quantidade de neutrófilos. Grupo I apresentou diferenças estatísticas significantes. Pesquisador 1 > pesquisador 2

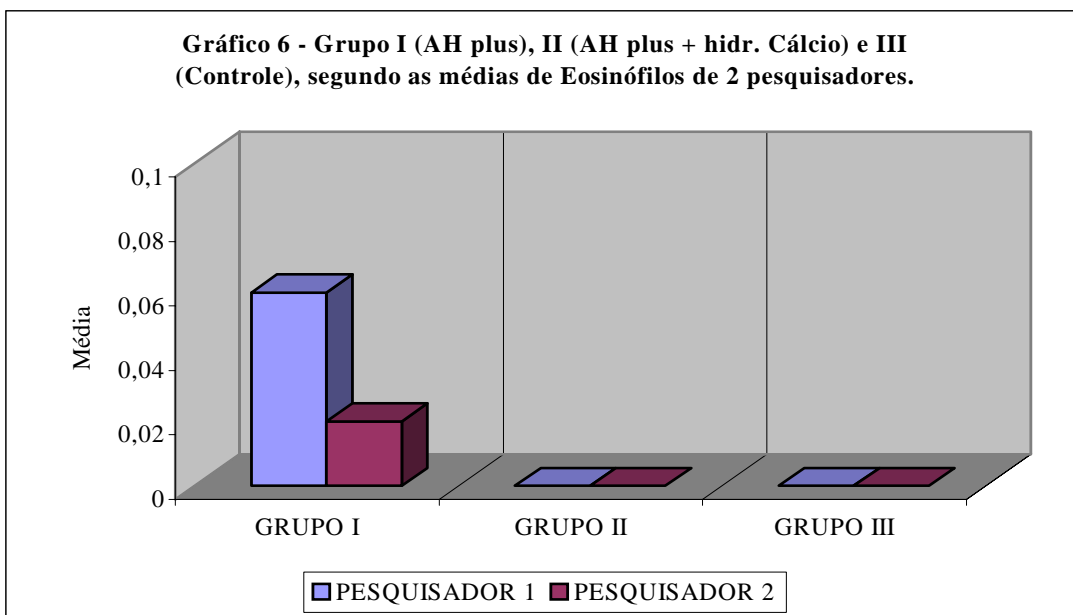


Figura 30. Comparação das médias do pesquisador 1 e pesquisador 2 segundo a quantidade de eosinófilos. Grupo I, grupo II e grupo III sem diferenças estatísticas significantes

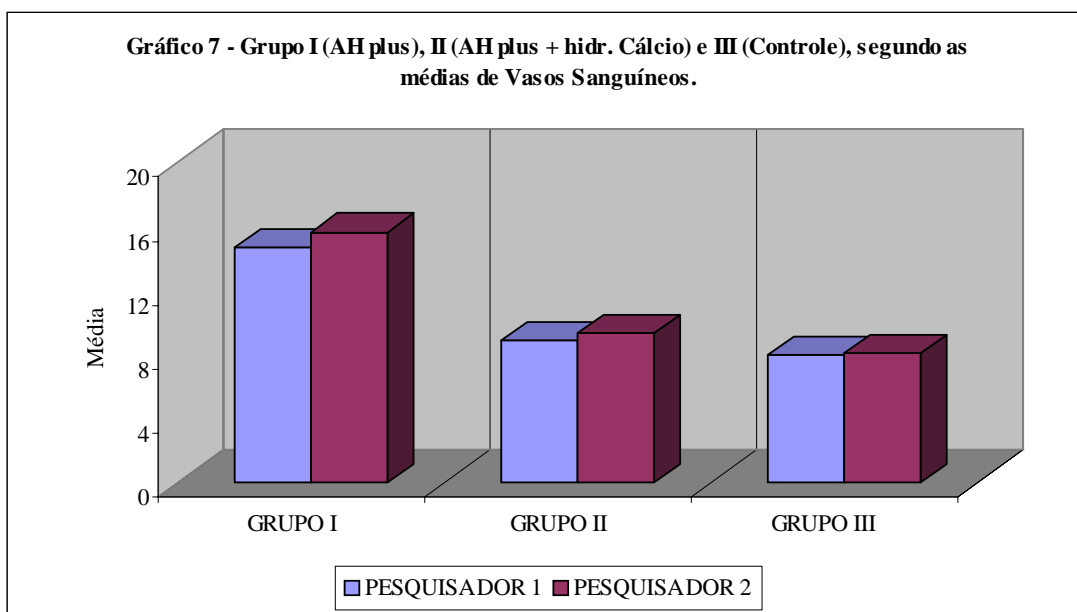


Figura 31. Comparação das médias do pesquisador 1 e pesquisador 2 segundo a quantidade de vasos sanguíneos. Grupo I, grupo II e grupo III sem diferenças estatísticas significantes

A comparação da reação inflamatória entre os três grupos experimentais, pela análise de variância de Kruskal Wallis, apresentou diferenças estatisticamente significantes, segundo o número de linfócitos, plasmócitos, histiócitos e vasos sangüíneos.

Entre os grupos analisados foram observados os seguintes resultados:

1. Linfócitos, Grupo I > grupo II = grupo III,
2. Plasmócitos, Grupo I > grupo II = grupo III,
3. Histiócitos, Grupo I > grupo II = grupo III,
4. Vasos sangüíneos, Grupo I > grupo II = grupo III.

Os demais elementos da reação inflamatória não apresentaram diferenças estatísticas significantes, porém, os números de neutrófilos e eosinófilos também foram mais intensos no grupo I (AH Plus puro). O número de células gigantes no grupo II (AH Plus acrescido de Ca(OH)_2 5%) foi maior que o dos grupos I e III. A resposta inflamatória desencadeada pelo grupo III (controle), foi menor que a dos grupos I e II, segundo os elementos analisados. As figuras 32 e 33 e a tabela X (Apêndice) são referentes a essa análise

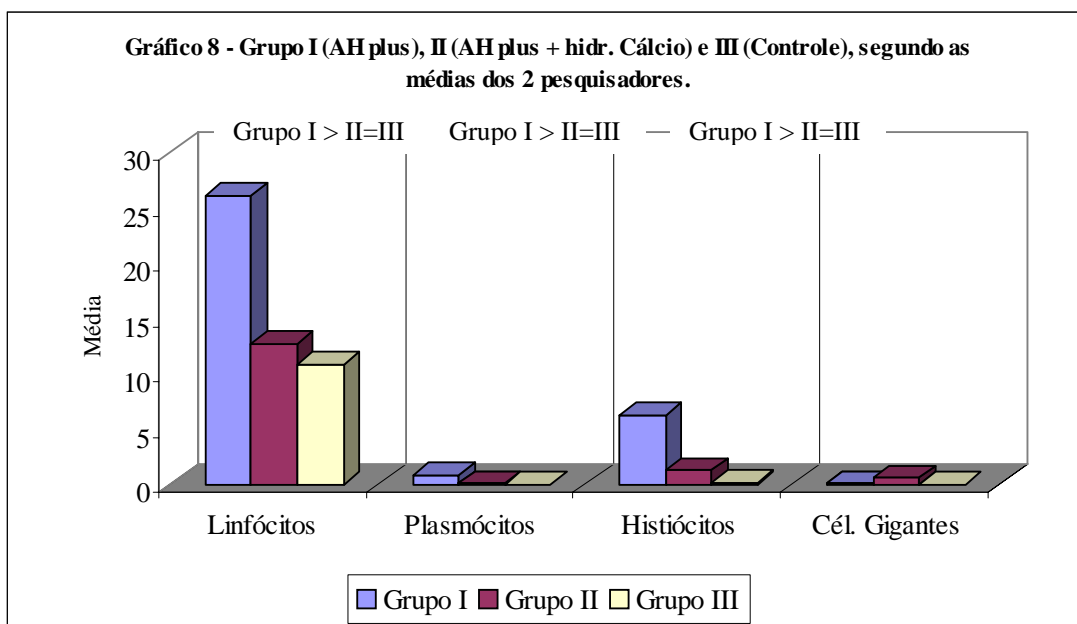


Figura 32. Comparação entre os grupos I, II e III segundo a quantidade de linfócitos, plasmócitos, histiócitos e células gigantes. Grupo I – diferenças estatísticas significantes na quantidade de linfócitos, plasmócitos e histiócitos, obtendo

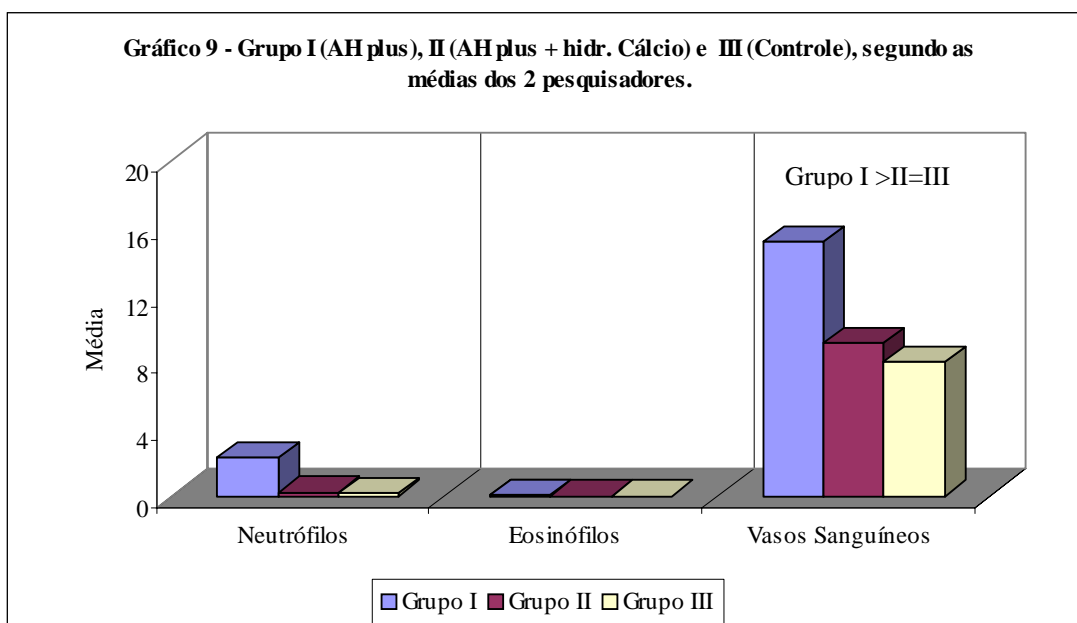


Figura 33. Comparação entre os grupos I, II e III segundo a quantidade de neutrófilos, eosinófilos e vasos sanguíneos. Grupo I - diferenças estatísticas significantes na quantidade de vasos sanguíneos, obtendo resultados superiores aos grupos II e III

O teste do Qui-quadrado foi aplicado para determinar a presença ou ausência das partículas dos materiais. Os resultados obtidos pelo pesquisador 1 foram iguais ao do pesquisador 2.

Grupo I – AH Plus, ausência das partículas em 1 dos 10 casos,

Grupo II – AH Plus + Ca(OH)₂ 5% em peso, ausência das partículas em 2 dos 10 casos,

Grupo III – Controle, ausência das partículas em 10 dos 10 casos.

Os resultados do teste do Qui-quadrado estão dispostos na Tabela XI.

Tabela XI - Grupo I (AH plus), II (AH Plus + Ca(OH)₂) e III (Controle), segundo a presença ou ausência de materiais para o pesquisador 1 e pesquisador 2

Grupo	Pesquisador 1		Total	% de Presença
	Presença	Ausência		
I	9	1	10	90,0
II	8	2	10	80,0
III	0	10	10	0,0
Total	17	13	30	56,7

Teste do Qui - Quadrado

$$X^2 \text{ calculado} = 19,82 * \quad X^2 \text{ crítico} = 5,99$$

Grupo I e II > III

	Pesquisador 2		Total	% de Presença
	Presença	Ausência		
Grupo				
I	9	1	10	90,0
II	8	2	10	80,0
III	0	10	10	0,0
Total	17	13	30	56,7

χ^2 calculado = 19,82 * χ^2 crítico = 5,99

Grupo I e II > III

DISCUSSÃO

No tratamento dos canais radiculares, todas as fases devem ser tratadas com a mesma atenção e importância, por serem consideradas como atos operatórios independentes. No entanto, atenção maior tem sido dada à resposta biológica pós - tratamento, representada pelo selamento apical, por meio da deposição de tecido mineralizado, ou mesmo por tecido fibroso de reparação (HOLLAND & SOUZA 1985, LEONARDO, 2005). A indução desse selamento apical biológico, porém, está condicionada à correta execução de todas as fases do tratamento endodôntico, como exemplo, a realização do batente apical durante o preparo e, ainda, a fatores importantes inerentes à fase de obturação, como o seu limite apical e a natureza do material obturador, uma vez que o mesmo ficará em contato direto com o tecido conjuntivo apical e periapical (SPANGBERG & LANGELAND, 1973).

A resposta inflamatória causada por esses materiais obturadores quando persistentes após a obturação, ao invés de cumprir seu papel de defesa e auxiliar na reparação tecidual, poderá agir inibindo o processo de reparação, devido aos componentes lesivos da resposta inflamatória. Desta maneira, o cimento obturador de canal radicular deverá preencher as qualidades físico-químicas e biológicas mais próximas do ideal, tendo boa radiopacidade, escoamento, aderência às estruturas dentinárias, bom vedamento e ainda apresentar biocompatibilidade aos tecidos apicais e periapicais permitindo selamento apical (LEONARDO, 2005).

Dentre os cimentos endodônticos existentes no mercado, muitos estudos mostram excelentes qualidades físico-químicas para os cimentos à base de resinas plásticas, sendo o cimento AH Plus aquele que apresenta melhores resultados entre os resinosos (AZAR et al., 2000; TIMPAWAT et

al., 2001; KOPPER et al., 2003; MCMICHEN et al., 2003). No entanto, o cimento AH Plus apresenta resultados biológicos inferiores aos cimentos que contêm o hidróxido de cálcio em sua composição (BARBOSA, ARAKI, SPANGBERG 1993; HUANG et al., 2002; MILETC et al., 2005).

A associação do hidróxido de cálcio aos cimentos endodônticos pode auxiliar no processo de reparo e reduzir a resposta inflamatória nos tecidos apicais e periapicais, causado pelos componentes irritantes desses cimentos (BERBERT et al., 2002; HUANG et al., 2002; MILETIC et al., 2005), esses achados são semelhantes àqueles encontrados nesse estudo.

Hidróxido de cálcio é composto inorgânico derivado de uma pedra chamada calcita, bem tolerado pelos tecidos apicais e periapicais, possuindo atividade antimicrobiana e pH alcalino e auxiliando no processo de remineralização desses tecidos (ESTRELA & HOLLAND, 2003). Oliveira et al, em 1980, demonstraram que a associação de 5% de hidróxido de cálcio ao cimento resinoso AH26 determinou melhores resultados biológicos em comparação ao AH26 puro.

Diversos estudos (AZAR et al., 2000; KOPPER et al., 2003; MCMICHEN et al., 2003; SCHAFER & ZANDBIGLARI, 2003) físico-químicos do cimento AH Plus apresentaram excelentes resultados. Duarte et al, em 2004, demonstraram em estudos *in vitro* que o acréscimo de 5% e 10% de hidróxido de cálcio ao cimento AH Plus resultou em maior liberação de íons cálcio e pH mais alcalino. Desta maneira, propusemos avaliar *in vivo* se o acréscimo de 5% de hidróxido de cálcio ao cimento AH Plus favoreceria o processo de reparação tecidual.

O tecido subcutâneo de rato foi o modelo experimental utilizado para avaliar o comportamento biológico do cimento AH Plus puro e cimento AH Plus acrescido de 5% de hidróxido de cálcio em peso. O uso do tecido subcutâneo de rato em endodontia tem se tornado comum e de grande valia, ainda que lhe falte o potencial de calcificação e a movimentação tecidual

dificulte a extrapolação dos resultados para o coto pulpar e tecidos periapicais, suas semelhanças morfológicas são dignas de registro (TOLEDO, ABBUD, LIA 1973; XAVIER et al. 1974; OLIVEIRA et al. 1980; TAGGER & TAGGER 1986; ECONOMIDES et al., 1995; SILVA et al., 1997).

Em estudo piloto prévio ao desenvolvimento da pesquisa, determinou-se que o período de 14 dias de pós-operatório para sacrifício dos animais seria suficiente para avaliar os aspectos quanti e qualitativos da reação inflamatória entre os grupos experimentais. O uso do sistema morfométrico para avaliação quantitativa da resposta inflamatória proporcionou grau de confiabilidade maior em relação àqueles estudos em que a análise da reação inflamatória foi apenas qualitativa. Assim sendo, seguimos o modelo de sistema morfométrico utilizado por outros pesquisadores (MORON 2001; ENOKIHARA 2003), minimizando a subjetividade dos resultados.

Após a leitura morfométrica dos cinco campos, os valores foram anotados e comparados estatisticamente, aplicando o teste de Wilcoxon. Desta maneira, no grupo I, a média de linfócitos, observada pelo pesquisador 1, foi comparada estatisticamente com a média de linfócitos, observada pelo pesquisador 2, assim sendo, para todos os componentes inflamatórios nos três grupos estudados. Os valores estatísticos do teste de Wilcoxon demonstraram que o número de neutrófilos encontrados pelo pesquisador 1 foi maior que aqueles encontrados pelo pesquisador 2. Entretanto, essas células apareceram em pequeno número na reação inflamatória, não representando significado clínico importante. Os demais componentes analisados pelos dois pesquisadores foram semelhantes, não apresentando diferenças significantes.

Por tanto, os resultados obtidos permitiram realizar média aritmética, obtendo um único valor para cada um dos componentes analisados. Em

seguida, foi realizada a comparação entre os grupos, aplicando o teste não paramétrico de Kruskal Wallis. As médias de cada um dos componentes inflamatórios do grupo I foram comparadas com as médias dos seus respectivos componentes dos grupos II e III e vice-versa.

O teste demonstrou que a quantidade de linfócitos, plasmócitos, histiócitos e vasos sangüíneos nos animais implantados com tubos de silicone contendo cimento AH Plus puro (grupo I) foi mais intensa que nos grupos II (AH Plus + Ca(OH)_2) e III (controle), apresentando diferenças estatisticamente significantes. Entre os grupos II e III, as médias dos componentes do processo inflamatório não apresentaram diferenças estatísticas significantes. No entanto, apesar de pequena, a intensidade do infiltrado inflamatório foi maior no grupo II. Outro achado importante nos grupos I e II, foi observado naqueles casos cujas partículas dos materiais não foram encontradas junto à reação inflamatória. Talvez, pela movimentação do tecido subcutâneo do rato, as partículas dos materiais se dispersaram para longe do local que foi analisado. Nesses casos, o processo inflamatório foi desencadeado provavelmente pela presença do tubo de silicone, apresentando intensidade semelhante àquelas encontradas no grupo controle (grupo III).

A morfologia do processo inflamatório foi semelhante entre os grupos experimentais, caracterizando reação inflamatória crônica inespecífica. O predomínio do infiltrado linfomononuclear e histiocitário característicos nesse tipo de reação inflamatória possui funções importantes no processo de reparação tecidual em ação conjunta com outros leucócitos do sistema de defesa, encontrados junto ao tecido de granulação. Embora semelhante morfologicamente, o linfócito constitui população celular heterogênea, com características imunológicas diferentes, sendo o linfócito T responsável pela liberação de citocinas que ativam os monócitos a se diferenciarem em histiócitos, células metabolicamente mais ativas e com

maior capacidade fagocitária. No entanto, para diferenciar os diversos tipos de linfócitos, é necessário empregar anticorpos específicos para análises imunohistoquímicas. Os histiócitos são importantes constituintes celulares do tecido de granulação, responsáveis pela remoção de restos celulares, fibrinas e outros materiais estranhos no local de reparo; mais ainda, na presença de estímulos quimiotáticos apropriados, promovem a migração e proliferação de mastócitos, polimorfonucleares e linfócitos, células que podem contribuir direta ou indiretamente para a migração e proliferação de fibroblastos, auxiliando no processo de reparação tecidual (COTRAN, KUMAR, COLLINS, 2000).

Células gigantes incitadas pela presença de corpos estranhos inertes (partículas dos materiais), formando granuloma tipo corpo estranho, foram observadas ao redor das partículas. Plasmócitos, células comumente encontradas na resposta inflamatória crônica, foram observadas em pequeno número. Pelo fato de serem células secretoras de anticorpos específicos contra antígenos bacterianos ou protéicos, clinicamente sua presença é significativa, sugerindo resposta inflamatória humoral desencadeada pelos materiais implantados.

Com a maturação da cicatriz, ocorre a regressão no número de células e vasos, transformando o tecido de granulação, ricamente vascularizado, em cicatriz pálida e avascular, podendo ser observada a persistência de vasos sangüíneos neoformados e leucócitos naquelas reações em que a presença de um agente irritante determina a persistência do processo inflamatório (CONTRAN, KUMAR, COLLINS, 2000). Desta maneira, pudemos observar que, nos três grupos experimentais, os materiais implantados desencadearam reações inflamatórias de diversas intensidades, sendo também observada a persistência do processo inflamatório nos animais do grupo I contendo o cimento AH Plus puro, onde o infiltrado celular e os vasos sangüíneos neoformados apresentaram-

se mais intensos do que aqueles encontrados no grupo II, que continham cimento AH Plus acrescido de hidróxido de cálcio 5% em peso e grupo III (controle).

O acréscimo de hidróxido de cálcio ao cimento AH Plus comportou-se histopatologicamente melhor que o cimento AH Plus puro. Estes achados concordam com outros estudos (BARBOSA, ARAKI, SPANGBERG, 1993; SIQUEIRA, FRAGA, GARCIA, 1995; BERBERT et al., 2002; HUANG et al., 2002; MILETIC et al., 2005) que, apesar de utilizarem metodologias diferentes, concluem que os cimentos que possuem o hidróxido de cálcio em sua composição resultou em resposta mais amena aos tecidos apicais e periapicais.

PERSPECTIVAS

- ✓ Análise imunohistoquímica dos componentes celulares que apresentaram significância estatística no infiltrado inflamatório.
- ✓ Estudos físico-químicos objetivando futura aplicação *in anima nobile*.

CONCLUSÃO

O acréscimo de 5% em peso de hidróxido de cálcio ao cimento endodôntico AH Plus promove melhor biocompatibilidade do que o cimento AH Plus puro em tecido subcutâneo de rato.

REFERÊNCIAS

Azar NG, Heidari M, Bahrami ZS, Shokri F. In vitro cytotoxicity of a new epoxy resin root canal sealer. *J Endod* 2000;26(8):462-5.

Barbosa SV, Araki K, Spangberg LSW. Cytotoxicity of some modified root canal sealers and their leachable components. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology* 1993;75(3):357-61.

Berbert FLCV, Leonardo MR, Silva LAB, Filho MT, Bramante CM. Influence of root canal sealers on repair of apical periodontitis after endodontic treatment. *Oral surg Oral med Oral pathol Oral radiol Endod* 2002;93(2):184-9.

Bernath M, Szabo J. Tissue reaction initiated by different sealers. *Int Endod J* 2003;36:256-61.

Cobankara FK, Altinoz HC, Erganis O, Kau K, Bellis S. In vitro antibacterial activities of root canal sealers by using two different methods. *J Endod* 2004;30(1):57-60.

Contran R S, Kumar V, Collins T. Inflamação aguda e crônica. *Robbins Patologia Estrutural e Funcional*. Sexta edição. Philadelphia, Guanabara Koogan S. A.; 2000. p.44-78.

Contran R S, Kumar V, Collins T. Reparo dos tecidos: Crescimento celular, fibrose e cicatrização das feridas. *Robbins Patologia Estrutural e Funcional*. Sexta edição. Philadelphia, Guanabara Koogan S. A.; 2000. p.79-100.

Duarte M A, de Oliveira Demarchi A C, Moraes I G. Determination of ph and calcium ion release provided by pure and calcium hydroxide containing AHPlus. *Int Endod J*. 2004;37(1):42-5.

Economides N, Kotsaki-Kovatsi VP, Pouloupoulos A, Kolokuris I, Rozos G, Shore R. *J Endod* 1995;21(3):122-7.

Enokihara M M S S. Estudo morfológico e imunohistoquímico dos linfonodos sentinelas de pacientes com melanoma cutâneo primário. Tese apresentada à Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina para obtenção do título de doutor em medicina 2003.

Ercan E, Ozekinci T, Atakul F, Gul K. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. *J Endod* 2004;30(2):84-7.

Estrela C, Holland R. Hidróxido de cálcio: estudo baseado em evidencias científicas. *J Appl Oral Sci* 2003;11(4):269-82.

Fuss Z, Weiss EI, Shalhau M. Antibacterial activity of calcium hydroxide-containing endodontic sealers on *Enterococcus faecalis* in vitro. *Int Endod J* 1997;30:397-402.

Geurtsen W, Leinenbach F, Krage T, Leyhausen G. Cytotoxicity of four root canal sealers in permanent 3T3 cells and primary human periodontal ligament fibroblast cultures. *Oral surg Oral med Oral pathol Oral radiol Endod* 1998;85(5):592-7.

Gimbel M, Correa A, Lin LM. Calcium hydroxide as a temporary filling of the post space in root-filled teeth. *Oral surg Oral med Oral pathol Oral radiol Endod* 2002;94(1):98-102.

Holland R & SOUZA V. Ability of a new calcium hydroxide root canal filling material to induce hard tissue formation. *J Endod* 1985;11(12):535-43.

Huang FM, Tai KW, Chou MY, Chang YC. Cytotoxicity of resin-zinc oxide-eugenol and calcium hydroxide based root canal sealers on human periodontal ligament cells and permanent V79 cells. *Int Endod J* 2002;35:153-8.

Kaplan AE, Ormaechea MF, Picca M, Canzobre MC, Ubios AM. Rheological properties and biocompatibility of endodontic sealers. *Int Endod J* 2003;36:527-32.

Kooper PMP, Figueiredo JAP, Bona AD, Vanni JR, Bier CA, Bopp S. Comparative in vivo analysis of the sealing ability of three endodontic sealers in post-prepared root canals. *Int Endod J* 2003;36:857-63.

Leonardo M R. Materiais obturadores de canais radiculares. *Endodontia: Tratamento de canais radiculares: Princípios técnicos e biológicos*. Volume 2. São Paulo: Artes Médicas; 2005. 1063-1145

Leonardo M R, Salgado A A M, Silva L A B, Tanomaru Filho M. Reparação apical e periapical de dentes de cães com lesão periapical crônica após tratamento endodôntico utilizando diferentes materiais obturadores. *Pesquisa Odontológica Brasileira* 2003;17(1):69-74.

Leonardo MR, Silva LAB, Filho MT, Silva RS. Release of formaldehyde by 4 endodontic sealers. *Oral surg Oralmed Oral pathol Oral radiol Endod* 1999;88(2):221-5.

McMichen FRS, Pearson G, Rahbaran S, Gulabivala K. A comparative study of selected physical properties of five root-canal sealers. *Int Endod J* 2003;36:629-35.

Miletic I, Devicic N, Anic I, Borcic J, Karbavic Z, Osmk M. The cytotoxicity of RoekoSeal and AH Plus compared during different setting periods. *J Endod* 2005;31(4):307-9.

Miletic I, Jukics S, Anic I, Zeljezic D, Garaj-vrhovac V, Osmak M. Examination of cytotoxicity and mutagenicity of AH26 and AH Plus sealers. *Int Endod J* 2003;36:330-5.

Moron C M A. Estudo clínico e imunohistoquímico da dermatite de contato das mãos. Tese de mestrado apresentada à faculdade de medicina da Universidade de São Paulo 2001.

Oliveira AS, Barbert A, Bramante CM, Alle N, Lopes ES. Efeitos histopatológicos do AH-26, do hidróxido de cálcio e de misturas de ambos em tecido subcutâneo de rato. *Rev. Paulista de Endodontia* 1980;1(3):4-16.

Schafer E, Zandbiglari T. Solubility of root canal sealers in water and artificial saliva. *Int Endod J* 2003;36:660-9.

Schweikl H, Schmalz G, Federlin M. Mutagenicity of the root canal sealer AHPlus in Ames test. *Clin Oral Investig* 1998;2(3):125-9.

Siegel S, Castellan Jr N J. Nonparametric statistic. Second edition. New York, McGraw-Hill Int. Ed.; 1988. p.399.

Silva LA, Leonardo MR, Faccioli LH, Figueiredo F. Inflammatory response to calcium hydroxide based root canal sealers. *J Endod* 1997;23(2):86-90.

Silva LAB, Leonardo MR, Silva RS, Assed S, Guimarães LFL. Calcium hydroxide root canal sealers: evaluation of pH, calcium ion concentration and conductivity. *Int Endod J* 1997;30:205-9.

Siqueira FJ, Jr., Fraga RC, Garcia PF. Evaluation of sealing ability, pH and flow rate of three calcium hydroxide-based sealers. *Endod Dent Traumatol* 1995;11(5):225-8.

Spangberg L, Langeland K. Biologic effects of dental materials. I. Toxicity of root canal filling materials on HeLa cells in vitro. *Oral Surg* 1973;35(3):402-14.

Tagger M, Tagger E. Subcutaneous reactions to implantation of tubes with AH26 and Grossman's sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1986;64(4):434-40.

Tanomaru JM, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Bonetti Filho I, Silva LA. Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS. *Int Endod J* 2003;36(11):733-9.

Timpawat S, Amornchat C, Trisuwan W. Bacterial coronal leakage after obturation with three root canal sealers. *J. Endod* 2001;27(1):36-9.

Toledo OA, Abbud R, Lia RCC. Reação do tecido subcutâneo do rato ao implante de fármacos à base de hidróxido de cálcio. Estudo Histológico. *Rev Fac Farm Odont* 1973;7(2):163-172.

Waltimo TMT, Boiesen J, Eriksen HM, Orstavik D. Clinical performance of 3 endodontic sealers. *Oral surg Oral med Oral pathol Oral radiol Endod* 2001;92(1):89-92.

Whitworth JW, Boursin EM. Dissolution of root canal sealer cements in volatite solvents. *Int Endod J* 2000;33:19-24.

Xavier MJ, Berbert A, Alle N, Bramante CM, Lopes ES. Histopathological behavior of rat *Rattus Norvegicus* var. *Albinus* connective tissue to implants of root canal filling cements: Rickert, AH-26 and Endomethasone. *Estomatol Cult* 1974;8(1):61-71.

Xu Q, Fan M, Fan B, Cheung GSP, Hu H. A new quantitative method using glucose for analysis of endodontic leakage. *Oral surg Oral med Oral pathol Oral radiol Endod* 2005;99(1):107-11.

Zmener O, Spielberg C, Lamberghini F, Rucci M. Sealing properties of a new epoxy resin-based root-canal sealer. *Int Endod J* 1997;30:332-4.

NORMAS ADOTADAS

DeCS – Descritores em Ciências da Saúde [online]. Consulta ao DeCS. São Paulo; 2005. Disponível em: <http://desc.bvs.br>

BC-Descrição do modelo de ficha catalográfica adotada pela Biblioteca Central da Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina. Disponível em: [URL:http://www.biblioteca.epm.br/desc_ficha_catalografica.htm](http://www.biblioteca.epm.br/desc_ficha_catalografica.htm)

Goldenberg S. Orientação normativa para elaboração e difusão de trabalhos científicos. In: Goldenberg S, Guimarães CA, Castro AA. Elaboração e Apresentação de Comunicação Científica [monografia online]. São Paulo;2001.[citado 2005 Nov 15]. Disponível em: <http://www.metodologia.org>.

Ferreira LM, Goldenberg S, Nahas FX, Ely PB, Liebano RE. Orientação Normativa para a Elaboração e Apresentação de Teses. São Paulo: Editora CEDCP; 2004.62p.

ORIENTAÇÃO NORMATIVA PARA ELABORAÇÃO E APRESENTAÇÃO DE TESES. Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Plástica Reparadora UNIFESP-EPM. 1ª edição - São Paulo: Editora CEDCP; 2006.

C. O. B. E. A. (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) – Princípios éticos da experimentação animal. Disponível em: <http://www.meusite.com.br/cobea/index.htm>.

ABSTRACT

Introduction: In the treatment of root canals, every phases must be considered independent operatives. A greater attention has been given to a biological response pos-treatment. Although, the AH Plus presents good biological response in relation to the apicals and peripicals tissues, the sealers containing calcium hydroxide are still the first choice in cases in which tolerance, reparation and anti-microbian actions in such tissues are desirable. Thus, considering the excellent physiochemical properties of the AH Plus, it was considered oportune the realization of a biological study to confirm if the increase of calcium hydroxide would supply improvement of the product biocompatibility. **Aims:** To determine the biocompatibility to AH Plus endodontic sealer, additioned of calcium hydroxide to 5% in weight. **Methods:** 30 rats, distributed in 3 groups of 10 animals, were used. Silicon tubes containing materials in test were implanted, to each animal, in the subcutaneous of the back dorsum. Group I – animals implanted with tubes containing pure AH Plus; Group II containing AH Plus added with calcium hydroxide and Group III – empty tubes (control). The biocompatibility was determined by the qualitative and quantitative analysis of inflammatory reaction. **Results:** The adjacent tissue to the tube attested a not specific chronic inflammatory process, qualitatively similar in the three experimental groups. Quantitatively, the animals implanted with cement added with calcium hydroxide 5% in weight presented inflammatory reaction less intense than the group implanted with pure cement. **Conclusion:** The increase of 5% in weight calcium hydroxide to the AH Plus sealer promotes better biocompatibility than pure AH Plus in the subcutaneous tissues of rats.

TABELA III - Número de células, vasos sanguíneos e presença ou não das partículas. Morfometria dos 5 campos realizada pelo pesquisador 1 nos animais do grupo II

CASOS PARÂMETRO HISTOLÓGICO	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
LINFÓCITO	13	30	55	0	2	0	40	0	4	31
	11	27	72	2	2	1	25	0	3	29
	7	25	47	3	3	1	6	0	1	31
	3	20	38	1	1	0	3	1	1	19
	3	15	20	0	1	3	2	1	2	29
PLASMÓCITO	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HISTIÓCITO	2	1	3	0	0	0	0	0	0	3
	3	3	3	1	0	0	0	0	0	3
	1	0	4	0	0	0	0	0	0	4
	0	12	0	0	0	1	0	0	0	2
	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
CEL. GIGANTE	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2
	0	0	1	0	0	0	0	0	0	4
	0	0	3	0	0	0	0	0	0	5
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
NEUTRÓFILO	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EOSINÓFILO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VASOS SANGUÍNEOS	8	9	6	3	3	15	3	22	6	6
	8	15	3	5	4	6	8	24	4	9
	13	11	10	5	12	4	21	21	3	6
	15	15	3	4	10	5	12	29	3	3
	10	12	7	9	3	2	4	20	2	3
PRESENÇA DO AGENTE	S	N	S	N	S	S	S	S	S	S

TABELA VI – Número de células, vasos sanguíneos e presença ou não das partículas. Morfometria dos 5 campos realizada pelo pesquisador 2 nos animais do grupo II

CASOS PARÂMETRO HOSTOLÓGICO	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
LINFÓCITO	5	28	60	1	6	1	2	4	0	32
	4	31	74	1	2	1	5	5	0	27
	13	30	57	1	2	2	5	2	0	36
	8	16	36	1	1	0	5	17	2	35
	15	22	18	2	0	1	4	48	0	12
PLASMÓCITO	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
HISTIÓCITO	2	13	6	0	0	0	0	0	0	7
	2	7	7	0	0	0	0	0	0	6
	0	5	6	0	0	0	0	0	0	8
	0	4	7	0	0	0	0	0	0	5
	0	5	3	0	0	0	0	0	0	5
CEL. GIGANTE	0	4	5	0	0	0	0	0	0	4
	0	0	3	0	0	0	0	0	0	8
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	4	0	0	0	0	0	0	5
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
NEUTRÓFILO	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	1	0	1	0	0	1	0	0	0
EOSINÓFILO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VASOS SANGUÍNEOS	8	9	5	4	8	12	3	25	4	8
	5	12	5	6	7	8	8	28	3	6
	13	11	11	8	9	5	22	22	2	3
	17	12	6	8	5	6	5	32	2	2
	12	13	8	9	7	2	15	19	4	2
PRESENÇA DO AGENTE	S	N	S	N	S	S	S	S	S	S

TABELA VIII –Grau de resposta inflamatória nos grupos I (AH Plus), II (AH Plus +Ca(OH)₂) e III (controle), segundo as médias de linfócitos, plasmócitos, histiócitos e células gigantes de 2 pesquisadores

Teste de Wilcoxon (Pesquisador 1 vs Pesquisador 2) Z crítico = 1,96

LINFÓCITOS

Grupo	n	Pesq. 1 Média	Pesq. 2 Média	Z calculado	p	
I	10	26,72	26,50	1,63	0,1020	n.s
II	10	12,68	12,72	0,73	0,4630	n.s
III	10	10,76	10,96	0,06	0,9530	n.s

PLASMÓCITOS

Grupo	n	Pesq. 1 Média	Pesq. 2 Média	Z calculado	p	
I	10	0,84	0,88	0,56	0,5770	n.s
II	10	0,08	0,14	0,82	0,4140	n.s
III	10	0,00	0,00	0,00	1,0000	n.s

HISTIÓCITOS

Grupo	n	Pesq. 1 Média	Pesq. 2 Média	Z calculado	p	
I	10	6,38	6,22	1,13	0,2600	n.s
II	10	0,98	1,52	0,51	0,6110	n.s
III	10	0,18	0,12	1,13	0,2570	n.s

CÉLULAS GIGANTES

Grupo	n	Pesq. 1 Média	Pesq. 2 Média	Z calculado	p	
I	10	0,04	0,04	0,00	1,0000	n.s
II	10	0,52	0,74	1,60	0,1090	n.s
III	10	0,00	0,00	0,00	1,0000	n.s

TABELA IX – Grau de resposta inflamatória nos grupos I (AH Plus), II (AH Plus + Ca(OH)₂) e III (controle), segundo as médias de neutrófilos, eosinófilos e vasos sanguíneos de 2 pesquisadores

Teste de Wilcoxon (Pesquisador 1 vs Pesquisador 2) Z crítico = 1,96

NEUTRÓFILOS

Grupo	n	Pesq. 1 Média	Pesq. 2 Média	Z calculado	p	
I	10	2,42	2,20	2,26	0,0240	Pesq.1>Pesq. 2
II	10	0,22	0,24	0,45	0,6550	n.s
III	10	0,22	0,14	0,70	0,4820	n.s

EOSINÓFILOS

Grupo	n	Pesq. 1 Média	Pesq. 2 Média	Z calculado	p	
I	10	0,06	0,02	1,00	0,3170	n.s
II	10	0,00	0,00	0,00	1,0000	n.s
III	10	0,00	0,00	0,00	1,0000	n.s

VASOS SANGUÍNEOS

Grupo	n	Pesq. 1 Média	Pesq. 2 Média	Z calculado	p	
I	10	14,66	15,66	0,97	0,3330	n.s
II	10	8,86	9,32	1,17	0,2410	n.s
III	10	7,94	8,06	0,24	0,8120	n.s

Tabela X - Grau de resp. inflamatória nos grupos I (AH Plus), II (AH Plus + Ca(OH)₂) e III (controle), segundo os valores de linfócitos, plasmócitos, histiócitos, células gigantes, neutrófilos, eosinófilos e vasos sanguíneos. Média dos resultados dos 2 pesquisadores

	linfócitos	Plasmócitos	Histiócitos	Células Gigantes	Neutrófilos	Eosinófilos	Vasos sanguíneos
	Média	Média	Média	Média	Média	Média	Média
Grupo I	26,10	0,86	6,30	0,04	2,31	0,04	15,16
Grupo II	12,70	0,11	1,25	0,63	0,23	0,00	9,09
Grupo III	19,86	0,00	0,15	0,00	0,18	0,00	8,00
H calculado =	5,99 *	16,34 *	16,56 *	3,55	3,67	4,14	9,40 *
P=	0,0500	0,0000	0,0000	0,1700	0,1590	0,1260	0,0090
	G. I > II e III	G. I > II e III	G. I > II e III	n.s	n.s	n.s	G. I > II e III

FONTES CONSULTADAS

Leonardo MR. Endodontia: Tratamento de canais radiculares: princípios técnicos e biológicos. São Paulo: Artes médicas: 2005; vol. 1 e 2.

Contran R S, Kumar V, Collins T. Robbins Patologia Estrutural e Funcional. 6 ed. Philadelphia, Guanabara Koogan S. A.; 2000. p.44-78.

Orstavik D, Pitt Ford TR. Fundamentos da endodontia: prevenção e tratamento da periodontite apical. São Paulo, Livraria Santos Editora; 2004.

ANEXOS



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 21 de outubro de 2005.

CEP 1136/05

Ilmo(a). Sr(a).

Pesquisador(a) RICARDO LEÃO DE OLIVEIRA

Co-Investigadores: Renato Santos de Oliveira Filho; Narciso Garone Netto; Marco Antônio Húngaro Duarte; Lydia Masako Ferreira

Disciplina/Departamento: Cirurgia Plástica/Cirurgia da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Patrocinador: FAPESP.

PARECER DO CÔMITE DE ÉTICA EM PESQUISA

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: “**Efeito Biológico do acréscimo de hidróxido de cálcio ao cimento AHPlus**”.

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Estudo experimental em ratos para desenvolvimento de nova forma terapêutica.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: Não se aplica.

OBJETIVOS: Definir se o acréscimo de hidróxido de cálcio ao cimento AH Plus favorece uma melhora do comportamento biológico do mesmo.

RESUMO: Serão empregados 30 Ratos (*rattus norvegicus albinus* – wistar EPM –1) machos com peso entre 250 e 300gr, os quais serão anestesiados com Dopalen- cloridrato de ketamina 1,16 g na dose de 100mg/kg de peso corporal e virbaxyl 2% cloridrato de xilazina 0,2g, na dose 130mg/kg de peso, injetando-se intraperitonealmente. Estes animais serão submetidos a implantação, no subcutâneo de seu dorso, de tubos de polietileno medindo 1cm de comprimento e 1,5 mm de diâmetro contendo material a ser testado. O material a ser testado é o AHPlus que consiste de um cimento resinoso, pasta/pasta, cuja composição é: Pasta Epóxi (Diepoxi, tungstênio de cálcio, óxido de zircônio, aerossol e pigmento) e Pasta Amina. Será feita uma variação deste cimento com o acréscimo de 5% de hidróxido de cálcio em peso. Assim serão testados dois materiais: cimento AHPlus e cimento AHPlus acrescido de hidróxido de cálcio (5%). Os animais manterão vivos e depois de transcorrido período pós-operatório de 7 e 30 dias os animais serão sacrificados (15 ratos por período) com uma overdose de pentobarbital de sódio a 6% . Os tubos envolvidos por 0,5 cm de tecidos circunvizinhos na sua extremidade aberta serão dissecados, retirados e fixados em solução formol 10% e preparados para análise histológica qualitativa realizando-se a descrição dos fenômenos histopatológicos ocorridos, e se dará também por meio quantitativo estipulando-se escores de acordo com os fenômenos histológicos observados.

FUNDAMENTOS E RACIONAL: desenvolvimento de nova forma terapêutica.

MATERIAL E MÉTODO: descritos os procedimentos experimentais que serão realizados por equipe especializada.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: Fapesp R\$ 2178,00.

CRONOGRAMA: 18 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: mestrado.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: **16/10/2006** e **11/10/2007**.

O Comitê de Ética e pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU** e **APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguros por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana

Coordenador do Comitê de Ética em pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo