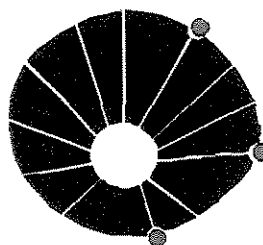


FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



UNICAMP

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

JOÃO EDUARDO GOMES FILHO

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DA REAÇÃO DO TECIDO
SUBCUTÂNEO DE RATOS APÓS A IMPLANTAÇÃO DE
CIMENTOS ENDODÔNTICOS**

~~Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a Resolução CCFL-036/83~~

~~CPG, ____/____/____~~

~~Assinatura do Orientador~~

Tese apresentada ao Curso de Clínica
Odontológica- Área de Endodontia, Faculdade
de Odontologia de Piracicaba, Universidade
Estadual de Campinas, como parte dos
requisitos para obtenção do Título de Doutor.

PIRACICABA

- 2001 -



27/2/10

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

JOÃO EDUARDO GOMES FILHO

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DA REAÇÃO DO TECIDO
SUBCUTÂNEO DE RATOS APÓS A IMPLANTAÇÃO DE
CIMENTOS ENDODÔNTICOS**

ORIENTADOR: PROF. DR. FRANCISCO JOSÉ DE SOUZA FILHO

Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a Resolução CCPG-036/83

CPG. 21/05/2001


Assinatura do Orientador

Tese apresentada ao Curso de Clínica
Odontológica- Área de Endodontia, Faculdade
de Odontologia de Piracicaba, Universidade
Estadual de Campinas, como parte dos
requisitos para obtenção do Título de Doutor.

PIRACICABA

- 2001 -

Ficha Catalográfica

G585a Gomes Filho, João Eduardo.
Avaliação histológica da reação do tecido subcutâneo de ratos após a implantação de cimentos endodônticos. / João Eduardo Gomes Filho. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2001.
ix, 91f. : il.

Orientador : Prof. Dr. Francisco José de Souza Filho.
Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Canal radicular – Tratamento. 2. Cimentos dentários. 3. Endodontia. 4. Biocompatibilidade. 5. Obturações (Odontologia). I. Souza Filho, Francisco José de. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 23 de Abril de 2001, considerou o candidato JOÃO EDUARDO GOMES FILHO aprovado.

1. Prof. Dr. FRANCISCO JOSE DE SOUZA FILHO

2. Prof. Dr. PEDRO FELÍCIO ESTRADA BERNABÉ

3. Prof. Dr. SÉRGIO VALMOR BARBOSA

4. Prof. Dr. CAIO CEZAR RANDI FERRAZ

5. Prof. Dr. FABRICIO BATISTA TEIXEIRA

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho,

Aos meus pais **JOÃO** e **NEIDE**, pelo amor que me
conduziram desde a infância, com os quais pude sempre
contar para alcançar este objetivo.

AGRADECIMENTOS

À Deus por me reservar sempre os melhores caminhos

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade de Campinas, na pessoa de seu digníssimo diretor Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum, pela oportunidade de aprimorar meus conhecimentos.

À FAPESP pelo apoio financeiro

À Profa. Dra. Altair A. Del Bel Cury, coordenadora geral do curso de Pós-graduação

À Profa. Dra. Brenda P.F.A. Gomes, coordenadora do curso de Pós-graduação em Clínica Odontológica

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Francisco José de Souza Filho, pelo incessante empenho e dedicação.

Ao Prof. Dr. Osley Paes de Almeida, pela amizade, seriedade disposição com que se dedicou a me ajudar num momento muito importante de conclusão deste trabalho.

Ao meu amigo Prof. Dr. Pedro Duarte Novaes pelo imenso interesse e apoio.

Aos professores da Disciplina de Endodontia, Prof. Dr. Fabrício Batista Teixeira, Prof. Dr. Caio Cesar Randi Ferraz, Profa. Dra. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes, Prof. Dr. Alexandre Augusto Zaia, Prof. Dr. Luiz Valdrighi, que representam mais que uma equipe, para mim representaram uma construção intelectual.

Aos meus grandes amigos e companheiros Cássio, Fábio e Johnson pela amizade em mim depositada.

Aos meus amigos de curso, Gerson, João Odilo, Assis, Eudes e Eneida, pela grande amizade que pudemos nutrir e que com certeza manteremos pelo resto de nossas vidas.

Aos amigos Cícero Romão Gadê Neto, Ronaldo Rodrigues, Ericka Tavares

Pinheiro, Ezilmara de Sousa Rolim, Noboru Imura, Soraia Carvalho e Tetis Sauaia.

A todos os amigos da Pós-graduação pela amizade e carinho que pudemos compartilhar.

Aos alunos da graduação e de iniciação científica Tatiana, Vanessa, Carol, Daniel, Marcelo, Carlinha, Fábio e todos os outros com os quais convivi no laboratório e na clínica de Endodontia.

Às amigas Morgana e Iadasa, que puderam em momentos importantes darem a suas contribuições.

Aos funcionários da Disciplina de Endodontia e Histologia, Rúbens, Cida, Denize, Adailton, Ivani, Cidinha, sem os quais seria impossível o desenvolvimento deste trabalho.

A todos que de alguma forma contribuíram para a finalização deste trabalho.

SUMÁRIO

CAPÍTULO	PÁGINA
RESUMO.....	1
INTRODUÇÃO.....	2
REVISÃO DA LITERATURA.....	4
PROPOSIÇÃO.....	51
MATERIAL E MÉTODOS.....	52
RESULTADOS.....	59
DISCUSSÃO.....	75
CONCLUSÕES.....	82
ABSTRACT.....	83
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar *in vivo* a biocompatibilidade dos cimentos endodônticos Endométhasone, Pulp Canal Sealer e AH-Plus, após a implantação em tecido subcutâneo de ratos. Vinte e quatro ratos Wistar-Furth foram utilizados. Cada cimento foi colocado no interior de tubos de polietileno e implantados em locais específicos no subcutâneo do dorso do animal. Os blocos de tecido foram removidos após 3, 7 e 30 dias, fixados e processados pelo método de inclusão em glicol metacrilato para avaliação microscópica.

Observou-se no terceiro dia, uma resposta inflamatória mais intensa, com células do infiltrado agudo para todos os cimentos, sendo que o cimento Pulp Canal Sealer apresentou uma reação mais branda. No sétimo dia, o tecido já se apresentava mais organizado principalmente para o cimento AH-Plus, o qual permitiu o início de formação de cápsula fibrosa na embocadura do tubo. No trigésimo dia, todos os cimentos apresentaram formação de cápsula fibrosa, com poucas células inflamatórias crônicas. Neste período mais longo, o cimento Pulp Canal Sealer apresentou um estágio mais avançado de organização tecidual, enquanto os cimentos AH-Plus e Endométhasone não diferiram muito entre si, mostrando ainda um leve grau de inflamação.

INTRODUÇÃO

A terapia endodôntica, particularmente os procedimentos biomecânicos, visa a remoção de microrganismos e seus produtos, bem como debris e substratos potenciais. Desta forma, previne ou inibe futuros crescimentos bacterianos. Em seqüência, há uma preocupação em se evitar a reinfecção, do espaço já limpo e preparado, com um material que permita uma completa obturação. Dentre os materiais mais utilizados estão a guta-percha e os cimentos endodônticos, os quais devem possuir propriedades físicas, químicas e biológicas aceitáveis (20).

Para que um cimento seja considerado biocompatível, ele deve ser atóxico, não causar necrose tecidual e ser rapidamente aceito pelos tecidos sem manter uma seqüela inflamatória (20, 27, 49).

Os métodos de avaliação da biocompatibilidade incluem a utilização de dentes de animais (45; 47), injeção em tecido subcutâneo de coelhos (6; 7; 19), tecido subcutâneo de ratos (10; 11; 13; 23; 24; 25; 32; 33; 35; 36; 37; 39; 40; 44; 58; 59) e cultura de células (27; 28; 48; 49; 52).

Um dos métodos para avaliação da biocompatibilidade de cimentos endodônticos em tecido subcutâneo de ratos utiliza a implantação de tubos de polietileno contendo o cimento a ser avaliado. Este método é simples e de fácil reprodução e padronização. No entanto, o processamento histológico das peças contendo o tecido e/ou o tubo, geralmente incluídas em parafina (13; 23; 24; 25; 32; 33; 39; 40; 48; 49; 58; 59), apresenta grandes dificuldades tanto durante a

microtomia quanto na qualidade final do material histopatológico, dificultando a quantificação celular no processo inflamatório (3, 14; 38), até que Gomes Filho, em 1999 (18), adaptou o método de inclusão de tecido subcutâneo de ratos em glicol metacrilato e mostrou que este método aumentava a qualidade final dos cortes histológicos favorecendo assim sua análise.

Os cimentos produzem no tecido adjacente ao material implantado uma reação que varia em intensidade dependendo da composição química e das propriedades que possuem (20). A maioria dos cimentos são à base de óxido de zinco e eugenol, mas também existem os cimentos com hidróxido de cálcio em sua composição, bem como aqueles à base de resina e ionômero de vidro (45).

O objetivo deste trabalho foi avaliar comparativamente a reação tecidual de 3 cimentos (Endométhasone, Pulp Canal Sealer e AH-Plus) implantados em tecido subcutâneo de ratos e processados utilizando o método de inclusão em glicol metacrilato, sendo que os dois primeiros são à base de óxido de zinco e eugenol e o último é a base de resina.

REVISÃO DE LITERATURA

STEWART, em 1958, estudou as reações produzidas pela implantação de cimentos endodônticos em tecido subcutâneo de coelhos e também a dissolução dos mesmos nestas condições.. Os materiais testados foram o cimento Kerr, o cimento de Grossman e o Diaket.

No animal 1 foram implantados os seguintes cimentos: Diaket, Kerr, uma mistura de óxido de zinco e eugenol e controle. O animal 2 recebeu: Diaket, Kerr e controle. O animal 3 recebeu: Kerr, Diaket e controle. E o animal 4 teve o cimento de Grossman e Diaket implantados e uma bolsa sem implante de cimento serviu como controle. Todos os materiais foram implantados em bolsas individuais.

Os espécimes juntamente com o tecido ao redor do implante foram removidos com variação do tempo para estudo histológico do tecido e pesagem dos implantes. O animal 1 foi observado com um período de 6 semanas, o animal 2 por 5 semanas, o animal 3 por 4 semanas e o animal 4 por 2 semanas.

Obteve como resultado que o óxido de zinco e eugenol foi totalmente absorvido em 6 semanas e os demais materiais foram encapsulados. Não houve perda de peso aparente para o cimento Kerr e Diaket, e houve uma perda insignificante de 0,03g associada ao cimento Grossman, podendo ser associada com a manipulação do tecido.

GUTTUSO, em 1963, avaliou a resposta inflamatória do tecido conjuntivo de ratos após a implantação de materiais endodônticos. Foram utilizados 10 diferentes materiais (AH-26, Riebeler, Diaket, cimento Kerr, Procosol, Tubliseal, Micro-Cide, N2, N2 Medical e PBSC), em trinta e seis ratos adultos saudáveis, os quais foram anestesiados pela inalação de éter. Em cada rato 3 áreas (ventre abdominal, dorso interescapular, e dorso pélvico) foram tricotomizadas por um aparelho elétrico e desinfetadas com álcool 70%, após o que, uma incisão de 1,0cm foi feita horizontalmente. O material foi então espatulado e injetado no interior do tecido numa quantidade aproximada de 0,1cc por área e a incisão foi suturada. Os materiais semilíquidos necessitaram de incisão o suficiente para que uma agulha perfurasse o tecido subcutâneo em cada área. Os materiais líquidos foram implantados embebidos em pontas absorventes de 1,0 cm.

Os animais foram sacrificados com uma sobredose de clorofórmio após 2, 16 e 32 dias. Uma extensa área ao redor dos implantes foi removida e imediatamente colocada em formol a 10% para fixação e levadas ao processamento histológico, com cortes de aproximadamente 8 micrometros.

Não foram identificadas alterações significantes no tecido implantado com AH 26, Diaket, cimento Kerr, Micro-Cide A, e PBSC. Já ao implante de N2, N2 Medical, Procosol, Riebler, e Tubliseal, em 16 dias, houve uma reação severa que provocou um abscesso evidente ou ulceração do tecido. Mas, ao trigésimo segundo dia, os tecidos de todos os ratos apresentaram normalidade, exceto pela evidência de área ulcerada no ventre do animal no qual foi implantada a resina Riebler.

Ao exame microscópico as reações foram classificadas como leve, moderada ou severa, dependendo do número de células, da espessura da cápsula, do grau de vascularização e do efeito no tecido adjacente.

Concluiu-se com este trabalho que embora ainda não exista o cimento ideal, o Diaket e o cimento Kerr são aqueles que apresentaram características mais próximas do cimento ideal. Além disso, o cimento Diaket possui vantagem em relação ao cimento Kerr por não conter metal. Foi concluído também que uso de N2, N2 Medical e Riebler não é justificado por este estudo, pelo fato de provocarem uma resposta tecidual muito severa.

TORNECK, em 1966, investigou a influência de um espaço não preenchido, bem como de outros fatores locais normalmente associado com o reparo endodôntico do tecido.

Tubos de polietileno de variados comprimentos e diâmetros foram implantados cirurgicamente no dorso de ratos. Antes da implantação, os tubos foram desinfetados em solução de iodo, depois lavados em solução salina, secos com gaze estéril e armazenados em tubos estéreis até o uso. Para a primeira fase, os tubos tiveram as duas extremidades abertas e na segunda uma das extremidades foi termicamente selada antes da desinfecção.

Após 60 dias de implantação, os animais foram sacrificados, o implante e o tecido adjacente foram conduzidos ao processamento histológico, realizando-se inclusão das peças em parafina e coloração com Hematoxilina e Eosina (HE) e tricrômico de Mallory.

Pontes de tecido desenvolveram-se no lume de alguns tubos e não em outros. Nos tubos selados de um lado, preveniu-se a invaginação, embora em alguns tubos foi observada a tentativa de invaginação.

A invaginação ocorreu nos tubos abertos de pequeno comprimento e grande diâmetro. Em tubos selados de um lado, a invaginação ocorreu primariamente em pequenos diâmetros, indicando que os fatores que influenciam no crescimento individual são diferentes em cada sistema. Em todos os espécimes um fluido seroso foi observado preenchendo o tubo e este fluido pareceu não influenciar a indução da inflamação.

Concluiu-se com este estudo que um canal limpo e desinfetado resultaria provavelmente na cura do tecido periapical, desde que o tecido tenha uma capacidade de reparo normal.

MOLNAR, em 1967, determinou a quantidade de eugenol livre em cimentos de óxido de zinco e eugenol após a presa. A proporção utilizada foi de 80% de óxido de zinco e 20% de eugenol. A determinação da quantidade de eugenol foi feita pela adição de metanol, pois este não produz nenhum composto durante a reação química, não dissolve o eugenolato de zinco e é facilmente removido com a evaporação a 500°C, sendo que o resíduo é o eugenol.

Quando da adição de metanol ao óxido de zinco, nem todo o eugenol pode ser extraído. As quantidades de eugenol extraídas da mistura seca e da fresca foram aproximadamente as mesmas que quando em solução. Após a presa a quantidade de eugenol livre foi aproximadamente 5% e permaneceu constante. A

agitação da mistura de óxido de zinco e eugenol durante a extração do eugenol afetou a taxa de reação. Com o aumento da agitação, menos eugenol livre foi notado. O sal de zinco (acelerador) e a água aumentaram a quantidade de eugenol livre extraído logo após a presa.

Como o eugenol está presente mesmo em pequenas quantidades, mudanças na estrutura do dente e do tecido podem ser esperados quando um cimento de óxido de zinco é usado.

PHILLIPS, em 1967, avaliou a resposta tecidual a tubos de polietileno vazios implantados em subcutâneo de ratos.

Os tubos tinham 6mm, 10mm e 15mm de comprimento com 6 diâmetros diferentes para cada comprimento, os quais antes de serem implantados foram desinfetados.

Os ratos foram anestesiados por inalação de éter e as áreas a serem implantadas receberam tricotomia e desinfecção. Quatro tubos com 4 secções diferentes foram implantados em cada rato.

Os animais foram sacrificados 60 dias após o implante pela inalação de éter e os blocos de tecido contendo os tubos foram removidos e fixados em formalina 10%. Os espécimes seguiram para processamento histológico com inclusão em parafina e foram seccionados com 6 micrômetros de espessura e coloração HE.

Os resultados mostraram que todos os tubos foram encapsulados por tecido conjuntivo fibroso e os tubos de comprimento menor com maior diâmetro

interno demonstraram um invaginação de tecido. Nenhuma resposta inflamatória foi encontrada com nenhum tubo.

ROWE, em 1967, investigou a reação do tecido periapical de gatos frente a alguns materiais obturadores de canal radicular. Foram utilizados 58 dentes em 16 gatos utilizando óxido de zinco e eugenol, uma mistura de sulfato de bário, formalina e componentes antiinflamatórios, cimento de Grossman, Lendermix, N2 e N2 apical.

Os animais foram anestesiados, o dente selecionado foi limpo com álcool 70% e a abertura coronária realizada. O comprimento e a instrumentação do dente foi obtido com alargadores e a irrigação foi realizada com peróxido de hidrogênio 5v. O material selecionado foi introduzido no canal com instrumento em rotação e o dente selado com amálgama.

Os animais foram sacrificados com 2, 6, 12, 14, 16 e 20 semanas, quando os blocos de dissecção de dente e tecido ósseo adjacente foram feitos e imediatamente fixados em formalina 10% e descalcificados. Os blocos foram então processados histologicamente com cortes de 9 micrômetros e corados com hematoxilina e eosina.

Os dentes preenchidos com cimento de óxido de zinco e eugenol mostraram uma severa reação inflamatória, mas quando foi adicionado o sulfato de bário ao pó e óleo de oliva ao eugenol ocorreu um resultado melhor. A adição de formalina e um agente antiinflamatório ao material obturador também diminuiu a resposta inflamatória do cimento.

Concluiu-se com este trabalho que a adição de formaldeído e acetato de cortisona ao cimento à base de óxido de zinco e eugenol, pode ser válido para a redução da inflamação nos primeiros meses após a remoção da polpa.

TORNECK, em 1967, investigou a reação do tecido conjuntivo de ratos a tubos de polietileno preenchidos com debris celulares contaminados e comparou com a reação de tubos preenchidos com os mesmos debris celulares, porém estéreis.

Tubos de polietileno de variados comprimentos e diâmetros foram implantados cirurgicamente no dorso de ratos. Antes da implantação, os tubos foram desinfetados em solução de iodo, depois lavados em solução salina, secos em gaze estéril e armazenados em tubos estéreis até o uso. Para a primeira fase os tubos tiveram as duas extremidades abertas e numa segunda uma das extremidades foi termicamente selada antes da desinfecção.

Alguns tubos selados em uma extremidade foram preenchidos com fragmento de tecido muscular da perna traseira de rato e colocados em solução salina para serem autoclavados. Outros tubos também selados foram preenchidos com o mesmo tecido muscular, só que contaminados com cocos Gram-negativo.

Os tubos foram implantados em subcutâneo de ratos por 60 dias. Ao final deste período os animais foram sacrificados e o tecido contendo o tubo removido e fixado, para processamento histológico com inclusão em parafina e coloração com Hematoxilina e Eosina , Giemsa e Gram.

Os achados indicaram que o prognóstico de reparo foi menos favorável quando o lume foi preenchido com debris contaminados. Em ambas as condições de tubo preenchido (contaminado ou não), o reparo foi menos favorável que quando o tubo estava estéril sem preenchimento algum.

BROWNE; FRIEND, em 1968, investigaram a irritação do tecido subcutâneo de coelhos a alguns materiais odontológicos. Os materiais testados foram amálgama de prata, N2 normal, Putridomors, Diaket normal, Diaket A, AH26, Kri I, óxido de zinco e óleo de oliva.

As amostras dos materiais foram colocadas em tubos de polietileno de 5,00mm de comprimento, 0,50mm de diâmetro interno, e paredes de 0,25mm de espessura, sendo que os excessos foram removidos com gases para que os tubos pudessem ser implantados na região de flancos e nuca de coelhos. Tubos com solução salina foram implantados e serviram como controle.

Os animais foram anestesiados e as regiões receptoras dos implantes foram tricotomizadas e desinfetadas com tintura de clorexidina 2% para realização das incisões até o plano mais profundo no tecido conjuntivo. Os tubos foram implantados de modo que ficassem a pelo menos 22mm da borda da incisão, a qual foi suturada e desinfetada novamente com tintura de clorexidina.

As amostras permaneceram em contato com o tecido por 2, 4, 7 dias, 4 semanas e 3, 6 e 12 meses, sendo que 4 coelhos foram sacrificados a cada período de tempo e cada um continha 1 implante de cada material. Ao final de cada período as amostras que continham o tecido adjacente foram removidas,

fixadas em formalina 10% por 24 horas, processadas histologicamente com cortes seriados de 8 micrometros e corados com hematoxilina e eosina.

Todos os materiais causaram grande reação inflamatória em 2 dias com exceção do N2 normal, e a maior reação inicial se deu com o amálgama. Com 4 semanas não houve diferença significativa entre os materiais. Com 3 meses houve uma maior reação ao Diaket normal. Uma leve reação persistiu por 12 meses em todos os materiais e um tecido fibroso cresceu para o interior dos tubos preenchidos com solução salina e pasta Kri após 3 meses.

SPANGBERG; LANGE LAND; em 1973, avaliaram *in vitro* a citotoxicidade de 12 materiais obturadores (2 marcas comerciais de pontas de guta-percha, 2 marcas comerciais cloropercha, Tubliseal, AH26, N2, Procosol, Pulp Canal Sealer, Pulp Canal Sealer modificado, um cimento experimental à base de resina e resina com clorofórmio manipulada em laboratório, um cimento experimental da Kerr).

Foi utilizado um novo método, o qual, através da medição da liberação de Cr^{51} pelas células permitiu a quantificação da toxicidade dos cimentos

Os resultados mostraram que todos os materiais testados foram altamente tóxicos quando recém manipulados, embora, um cimento experimental da Kerr tenha sido menos tóxico que os demais materiais. A cloropercha, após a evaporação do clorofórmio, teve a menor toxicidade de todos os materiais, após a presa.

DE SOUZA, et al, em 1977, analisaram a resposta do tecido subcutâneo de rato a várias pastas à base de hidróxido de cálcio, após a implantação de tubos de dentina humana contendo as diferentes substâncias do estudo.

Os materiais testados foram hidróxido de cálcio com água destilada, Calxyl, Pulpdent, hidróxido de cálcio DFL, Dycal, MPC, Formagen, pasta de hidróxido de cálcio iodada, pasta de hidróxido de cálcio com p. monoclorofenol canforado, Pasta A, composta de 4,0g de hidróxido de cálcio, 2,0g de óxido de zinco e 5,0mL de propilenoglicol, Pasta B composta de 5,0 g de hidróxido de cálcio, 2,5g de óxido de zinco, 3,5mL de óleo de oliva, 4,0mL de bálsamo do Canadá e 2,5mL de propilenoglicol, e Calvital.

Os tubos de dentina de 5,0 a 7,0 mm foram preparados a partir do 1/3 apical das raízes dos dentes humanos extraídos, os quais foram alargados com alargadores #35 e pela broca 702. Os tubos foram preenchidos com o material e implantados na região do dorso do animal, um de cada lado da linha média em 432 ratos que foram divididos em 12 grupos e para controle os tubos foram implantados em 365 animais adicionais.

Decorridos os períodos de 2, 7, 15, 30, 60 e 180 dias, os animais foram sacrificados e as peças removidas e fixadas em formalina 10% para processamento histológico com cortes seriados de 6 micrômetros e corados com hematoxilina e eosina.

Os resultados mostraram que a resposta do tecido conjuntivo do rato foi semelhante nas duas extremidades do tubo; que o hidróxido de cálcio, Calxyl, Pulpdent, hidróxido de cálcio DFL, hidróxido de cálcio e iodoformio, hidróxido de

cálcio com p. monoclorofenol canforado, Calvitil e pasta A estimularam a deposição de uma barreira de tecido calcificado nas extremidades dos tubos de dentina, isolando o material do tecido conjuntivo; que o Formagen produziu somente a deposição de barreiras parciais de tecido duro, em algumas espécies; que o Dycal, MPC e pasta B não produziram a deposição de barreira; que o acréscimo de aditivos ao hidróxido de cálcio pode reduzir sua capacidade de estimular a deposição de tecido calcificado.

KOZAM; MANTELL, em 1978, investigaram o efeito do eugenol no epitélio oral e tecido subjacente em ratos.

Cinquenta e cinco ratos foram anestesiados e a boca estabilizada na posição aberta, para a aplicação de eugenol 100% na região central do lábio inferior por 1 minuto. Os períodos de reação foram de 1, 2, 4, e 6 horas, quando os animais foram sacrificados e o centro da mucosa junto com a região adjacente foram removidos e fixados em formalina 10%. O processamento histológico foi feito com cortes seriados de 6 micrômetros e corados com hematoxilina e eosina.

Os resultados mostraram que o eugenol causou uma desnaturação das proteínas citoplasmáticas e perda da capacidade de coloração do epitélio, abscesso e necrose. Além disso, a formação de vesículas, edema e dissolução muscular também foram observadas.

LANGELAND, em 1978, pretendeu estabelecer padronizações e especificações no campo biológico das pesquisas acerca dos materiais de uso odontológico.

Concluiu que nenhum teste de cultura é suficiente para substituir um teste in vivo, mas é possível padronizá-lo e determinar um “ranking” de materiais quanto a toxicidade.

PITT FORD, em 1979, investigou a infiltração promovida por algumas marcas comerciais de materiais de uso odontológico. Os materiais testados foram AH26, cimento Kerr, ASPA IV Bn, ASPA Sn, ASPA IV BnSNO.

Utilizou 100 dentes unirradiculares extraídos. As raízes foram instrumentadas até a lima K 50, porém canais curvos até 40 e outros até 70, sem que o forame apical fosse ultrapassado. Não se utilizou hipoclorito de sódio nem peróxido de hidrogênio pelo fato de serem irritantes e para não alterar ao material, portanto, usou-se solução salina. Os canais foram secos com pontas de papel absorvente antes da introdução do material.

O material foi introduzido com alargadores até que o aparecesse no forame apical, quando o cone de guta-percha foi coberto por pasta e introduzido no canal sem penetrar no ápice (somente 1 cone foi utilizado). A abertura coronária foi vedada com cera e a superfície externa da raiz com 2 camadas de verniz. Após a secagem do verniz os dentes foram armazenados em solução salina até a presa do material. Os ápices foram imersos em eosina por 48 horas, após o que foram

cortados longitudinalmente e fotografados com uma régua ao lado, para medir a profundidade de penetração do corante.

Obteve como resultado que o ASPA IV B teve a maior infiltração, que nenhum material promoveu um selamento hermético de canal radicular, e que o cimento de ionômero de vidro pode ser utilizado como material obturador de canal radicular, embora seu tempo de presa seja curto.

CRANE et al, em 1980, compararam as características biológicas e físicas de um cimento obturador de canal radicular sem eugenol (experimental) com outros 2 cimentos com eugenol - Tubliseal e Pulp Canal Sealer.

As propriedades físicas investigadas foram o tempo de trabalho, tempo de presa, dureza, e pH. Três amostras de cada material foram feitas e o tempo de trabalho foi definido quando a guta-percha não pôde transferir facilmente o cimento, já o tempo de presa foi aquele no qual a espátula não pode erguer o cimento sobre seu próprio peso.

A penetração de corante foi feita utilizando canais radiculares de dentes humanos extraídos, os quais foram obturados com guta-percha e cimento pela técnica da condensação lateral. Canais obturados com guta-percha mas sem cimento foram utilizados como controle. Após a obturação as raízes foram seladas com cera exceto 0,50 mm apical e então imersos em azul de metileno, para serem seccionados em cortes de 0,75mm para avaliação da penetração do corante.

A compatibilidade do tecido ao material foi investigada pela implantação de tubos de polietileno com 5,00mm de comprimento contendo os materiais em

tecido subepitelial de ratos. Os animais foram sacrificados após 24, 48, e 96 horas e 6 meses, os blocos de tecido foram removidos e processados histologicamente com coloração hematoxilina e eosina. A reação foi graduada em 4 graus - 0 (nenhuma reação), 1 (leve reação), 2 (moderada reação) e 3 (severa reação).

Concluíram que o tempo de presa e de trabalho do cimento sem eugenol foi maior que os demais materiais testados. O tempo de presa para todos os materiais foi clinicamente aceitável. A dureza, o pH e o selamento de todos os cimentos foram similares. O cimento sem eugenol foi mais biocompatível, embora em 6 meses não houve diferença significante entre os cimentos.

LANGELAND; OLSSON; PASCON, em 1981, testaram as características físicas e biológicas do Hydron, as quais eram preconizadas pelo fabricante: 1- inerte, biocompatível, atóxico, e anti-inflamatório; 2- não causa reação de corpo estranho, reabsorção, ou interferência com o reparo do tecido ao qual está em contato; 3- sela e preenche completamente o canal.

As propriedades físicas do material variaram com a quantidade de água presente durante a presa. A colocação acurada do material foi difícil e a sua remoção após a presa dependeu do uso de brocas.

No teste biológico, a implantação do material no tecido provocou reação e macrófagos e corpos estranhos foram transportados da área original. Este transporte foi ativo durante 480 dias. A reação inflamatória variou em intensidade e extensão.

MORSE et al, em 1981, testaram as soluções de eugenol, clorofórmio, eucaliptol e água destilada, quanto a biocompatibilidade em tecido subcutâneo de ratos.

Trinta e dois ratos foram anestesiados com injeção intraperitoneal de pentobarbitol de sódio 65mg/mL, 5,1mg/100g de peso. Após a tricotomia, 4 círculos foram feitos com caneta, onde foram injetadas as soluções no tecido subepitelial.

Após 6 horas, os ratos foram sacrificados com injeção de pentobarbitol de sódio, os blocos de tecido foram removidos e fixados em formalina 10%. O processamento histológico se deu com cortes de 5 a 6 micrômetros. A observação ao microscópio óptico quantificou o número de células inflamatórias para dar o seguinte "score" menos de 25 células inflamatórias - grau1 (nenhuma inflamação), de 25 a 124 - grau 2 (leve inflamação), 125 ou mais - grau3(moderada ou severa inflamação , incluindo necrose).

Os resultados mostraram que o eugenol desenvolveu uma reação inflamatória mais severa que as outras soluções. Considerando-se que o eugenol se mostrou altamente irritante e que o clorofórmio foi banido pela FDA, o eucaliptol deveria ser mais amplamente utilizado na endodontia.

OLSSON, SLIKWSKI, LANGELAND, em 1981, avaliaram o método de implantação de tubos de teflon contendo materiais endodônticos, no interior de tecido subcutâneo de ratos, para testar a biocompatibilidade e enquadrar os

materiais em níveis de toxicidade. Os materiais testados foram cloropercha, cimento Kerr, e AH26.

Quarenta e dois ratos foram anestesiados com injeção intraperitoneal de 0,4mL de Ketamine HCl 100mg/mL contendo acepromacine, 0,05mg/mL. Após tricotomia no dorso do animal e desinfetados com 5% de iodine 70% alcoólico, as incisões foram feitas e 4 bolsas preparadas com profundidade de 20mm. Tubos de teflon de 7mm de comprimento e diâmetro interno de 1,3mm autoclavados foram preenchidos com os materiais e implantados cuidadosamente para evitar que o material se espalhasse. As incisões foram suturadas com fio cirúrgico.

Seis animais foram sacrificados com overdose de Ketamine após 14 dias. Outros 12 com 30, 90 e 180 dias. Os tubos foram removidos juntamente com o tecido adjacente e imersos em formalina 10% por 48 horas, quando os blocos foram processados histologicamente com cortes de 5 micrômetros e corados com HE, tricrômico de Masson, azul de metileno, e Brown e Brenn. Observou-se a ocorrência de tecido fibroso, dos vários tipos de células inflamatórias, e as alterações vasculares, graduando a reação em leve, moderada e severa.

A severidade da reação variou amplamente dentro de cada grupo e foi possível concluir que o método de implantação serve para avaliar os materiais endodônticos, mas um “ranking” de biocompatibilidade só seria possível para materiais com considerável diferença de toxicidade.

GROSSMAN; EDUARD, em 1982, examinaram algumas essências oleosas, usando o eugenol como controle positivo e solução salina como controle negativo, para determinar se alguma delas era menos irritante que o eugenol.

Oito coelhos foram tricotomizados, desinfetados com álcool e círculos foram feitos no dorso para demarcar a área a ser injetada com 0,05mL da essência a ser testada.

O exame macroscópico foi feito com 24 e 48 horas, 1 semana e 14 dias e 1 mês, para visualizar a reação inflamatória, presença de edema e necrose.

Os animais foram sacrificados com injeção de Ketamine e blocos de tecido foram removidos e fixados em formalina para processamento histológico de rotina. A reação foi graduada em leve, moderada ou severa.

Três essências - anetol, anis, e folha de pimenta foram menos irritantes que o eugenol.

PITT FORD, em 1983, examinou o selamento de 4 materiais obturadores, comparando com a reação tecidual, para verificar qualquer correlação. Os materiais utilizados foram ASPA IV, Kalzinol, Poly F, Endoseal.

Dentes humanos extraídos foram selecionados e armazenados em solução salina antes da preparação convencional e obturação do canal com os cimentos e guta-percha. Após a presa, o dente foi coberto com verniz, exceto o forame apical e retornado à solução salina. Os dentes foram imersos em solução de eosina por 48 horas e cortados longitudinalmente para que a profundidade de penetração do corante pudesse ser identificado.

Para a investigação da reação tecidual, utilizou-se de cães, nos quais os incisivos e pré-molares foram preparados. A polpa dos dentes foi removida e procedeu-se a irrigação e imediata obturação, sendo que o ápice dos dentes não foi alargado e nenhum dente foi sobreinstrumentado. O acesso coronário foi selado com amálgama.

Após 3 ou 12 meses, os dentes foram removidos e preparados histologicamente com coloração H.E. e Brown e Brenn. A reação inflamatória foi graduada em nenhuma, leve e severa, dependendo do número de células inflamatórias existentes.

Os resultados não mostraram qualquer tipo de correlação entre a infiltração do corante e a biocompatibilidade do cimento. Concluiu-se que é necessário preencher o canal mas não promover um selamento hermético, a importância do teste in vitro parece ter sido sobrenfatizado no passado.

SAFAVI, PASCON, LANGELAND, em 1983, avaliaram a resposta do tecido subcutâneo de ratos frente a dois cimentos endodônticos, usando para tanto, uma técnica de injeção e medição morfométrica. Os materiais testados foram AH26 e Hydron.

Quarenta e oito ratos foram anestesiados intramuscularmente com combinação de Ketamine HCl (100mg/mL) e acepromancine (0,05mg/mL). A pele foi tricotomizada e desinfetada com álcool 70%. Um mL de cada material foi injetado no interior de tubos de teflon com auxílio de uma seringa e agulha 20x1.

Os tubos possuíam de 5,0 a 7,0mm de comprimento, 1,7mm de diâmetro total e diâmetro interno de 1,3mm, sendo que uma das extremidades foi ocluída.

Para a implantação, a pele dorsal do animal foi perfurada para evitar hemorragia durante a penetração de uma agulha G-14, biselada, a qual continha em seu interior o tubo de teflon. Os tubos foram implantados de modo que a extremidade ocluída ficasse voltada para a ponta da agulha e para auxiliar a implantação, um embolo foi utilizado no interior da agulha.

Após um período de 90 minutos, 7, 14, 30, 90, e 180 dias, os ratos foram sacrificados em câmara de CO₂ ou por overdose de ketamine intracárdica. Os tubos e o tecido adjacente foram removidos e fixados em formalina 10% por 48 horas para o processamento histológico com coloração por hematoxilina e eosina, tricrômico de Masson, azul de metileno, e Brown e Brenn.

Necrose e inflamação foram observadas ao redor dos materiais em todos os intervalos de tempo. Concluiu-se que o método foi convincente para uma avaliação qualitativa dos materiais, mas não permitiu um “ranking” acurado da biocompatibilidade dos materiais.

TANZILI et al, em 1983, compararam a resposta do tecido subcutâneo de ratos ao Hydron e a Guta-percha mais cimento Tubliseal.

Trinta e dois tubos de polietileno ocluídos por calor em uma das extremidades, os quais mediam 10mm de comprimento, 1,5mm de diâmetro interno, foram preenchidos com Hydron ou guta-percha mais Tubliseal. Imediatamente após o preenchimento, os tubos foram implantados no subcutâneo

do rato, sendo que 4 tubos (2 de cada material) foram implantados em cada animal. O tecido da periferia do tubo foi usado como controle.

Os animais foram sacrificados após 3 e 7 semanas, e 3 e 6 meses, quando o tubo e o tecido periférico ao tubo foram removidos e fixados em formalina 10%. O processamento histológico se deu com cortes seriados de 6 micrômetros e coloração HE e Vem Kossa.

Os tubos preenchidos com Hydron mostraram uma expansão e reabsorção do material com distribuição deste no tecido conjuntivo, além disso, uma moderada cápsula de tecido conjuntivo contendo macrófagos se formou na interface material/tecido. Depósitos calcificados amorfos foram identificados próximo ao Hydron, sendo mais denso na interface Hydron/tecido. Já os tubos preenchidos com guta-percha e cimento Tubliseal demonstraram cápsula de tecido conjuntivo mais fina, com pequena distribuição ou reabsorção do material pelo tecido e uma leve resposta linfocitária foi notada próxima à cápsula fibrosa.

Os autores concluíram que o Hydron tem capacidade de induzir calcificação, mas não é estável dimensionalmente e induz resposta macrofágica. Já a guta-percha mais cimento Tubliseal pareceu ser relativamente inerte e poderiam ser usados como material obturador.

KETERRING; TORABINEJAD, em 1984, se propuseram a estudar a combinação de vários aspectos relacionados à citotoxicidade de 5 cimentos obturadores de canal radicular (Tubliseal, Diaket, AH26, cimento de Grossman, e cimento de Wach). Os cimentos foram testados em HeLa e cultura de fibroblastos.

A toxicidade foi medida pela incorporação de timidina aos componentes do ácido nucleico de cada tipo de célula usada. Os resultados mostraram que todos os cimentos testados são tóxicos em ambos os estados fresco e após a presa e o “ranking” de toxicidade dos cimentos em HeLa foi similar à cultura de fibroblastos. Os resultados comparados aos achados de outros autores permitiram concluir que o “ranking” é duvidoso.

MORSE et al, em 1984, avaliaram a toxicidade de materiais endodônticos em tecido subcutâneo de ratos. Os materiais testados foram óxido de zinco e eugenol, cloropercha, eucapercha, e xilopercha.

Dez ratos foram usados para injeção dos materiais. Uma área circunscrita de 10mm de diâmetro serviu como orientação para a injeção e posterior coleta do material a ser analisado. Os animais foram sacrificados após 48 horas com injeção de pentobarbital de sódio intracárdica, quando as peças de tecido contendo o tubo foram removidas e fixadas em formalina 10% para o processamento histológico de rotina.

Os graus de inflamação foram determinados pela quantidade de células inflamatórias a partir do seguinte “score”: menos de 25 células inflamatórias - grau1 (nenhuma inflamação), de 25 a 124 - grau 2 (leve inflamação), 125 ou mais - grau3(moderada ou severa inflamação).

Os resultados mostraram que a xilopercha e o óxido de zinco e eugenol causaram significativamente maior inflamação que a cloropercha e eucapercha. A eucapercha foi significativamente melhor que os outros 3 materiais.

MORSE et al, em 1984, avaliaram a toxicidade de materiais endodônticos em tecido subcutâneo de ratos. Os materiais testados foram óxido de zinco e eugenol, cloropercha, eucapercha, e xilopercha.

Dez ratos foram usados para injeção dos materiais. Uma área circunscrita de 10mm de diâmetro serviu como orientação para a injeção e posterior coleta do material a ser analisado. Os animais foram sacrificados após 6 horas com injeção de pentobarbital de sódio intracárdica, quando as peças de tecido contendo o tubo foram removidas e fixadas em formalina 10% para o processamento histológico de rotina.

A análise da taxa de inflamação mostrou que a xilopercha causou significativamente mais inflamação que a cloropercha, eucapercha, ou óxido de zinco e eugenol. Não houve significância na diferença entre óxido de zinco e eugenol, cloropercha e eucapercha.

SWARTZ, PHILIPS, CLARK, em 1984, mediram a liberação de flúor de 3 cimentos ionoméricos em um período de 12 meses, comparando com a liberação do silicato, silicofosfato, e um cimento de policarboxilato contendo flúor.

Foram feitos discos em um molde de teflon entre placas de vidro e estocadas em tubos contendo 3,0mL de água destilada sem flúor. A quantidade de flúor liberada foi medida com a adição de TISAB ao tubo e através dos eletrodos do fluorímetro.

A liberação de flúor dos cimentos de ionômero de vidro no período de 1 ano foi similar tanto no padrão quanto na quantidade, quando comparados ao

cimento de silicato. O cimento de silicofosfato tendeu a liberar menos flúor, enquanto a quantidade liberada pelo policarboxilato foi insignificante após o primeiro dia.

Concluíram que o cimento de ionômero de vidro possui propriedades anticariogênicas, pois há uma liberação de flúor por um período longo em quantidades similares ao cimento de silicato.

ABOUSH, JENKINS, em 1986, avaliaram quantitativamente a resistência adesiva à dentina e ao esmalte dos ionômeros de vidro restauradores incluindo o efeito do polimento na adesão do cimento. Os materiais testados foram Chem Fil, Chem Fil II, Fuji II, Fuji II F, Ketac Fil e ASPA.

Dentes extraídos foram limpos e estocados em água destilada e timol. Para os testes em dentina usou-se terceiros molares e para os testes em esmalte as superfícies linguais dos pré-molares foram utilizadas.

Os resultados mostraram que o Chem Fil teve uma resistência adesiva ao esmalte e à dentina maior que os demais materiais testados. Os detalhes topográficos da superfície dentinária mostraram que um aumento na rugosidade diminui a resistência adesiva, entretanto a limpeza com jato de pó de limpeza produziu uma condição favorável à adesão. Em 15 minutos a resistência adesiva dos materiais de presa rápida foi maior que 80% dos valores de 24 horas, confirmando que o polimento pode ser realizado na mesma sessão de confecção da restauração com ionômero de vidro.

CALLIS; SANTINI, em 1987, examinaram a resposta do tecido periapical ao cimento de ionômero de vidro usado como material obturador de canais radiculares comparado à guta-percha mais Tubliseal.

Caninos inferiores de 10 ferrets foram utilizados. Após a anestesia com pentobarbital de sódio, um retalho gengival foi feito para ressecção das coroas dos dentes, bem como para o alargamento e acesso aos canais radiculares. Os canais foram limpos com limas tipo K número 50, irrigados e secos. Os canais do lado direito foram obturados com guta-percha e tubuliseal, e os do lado esquerdo com ionômero de vidro.

Cinco animais foram sacrificados aos 7 dias e mais 5 aos 28 dias após os procedimentos cirúrgicos. A porção anterior da mandíbula foi extraída e fixada em formalina 4%. Os blocos descalcificados em citrato formigo e processado histologicamente com cortes de 5 micrômetros e corados com HE e Brown e Brenn. A resposta foi graduada, dependendo do número de células - menos de 25 células inflamatórias - grau1 (nenhuma inflamação), de 25 a 124 - grau 2 (leve inflamação), 125 ou mais - grau3 (moderada ou severa inflamação). A formação óssea foi graduada em 0 (ausente) e 1 (presente).

Ambos os materiais provocaram uma resposta inflamatória após 7 dias, mas a resposta ao ionômero de vidro foi mais severa. A resposta após 28 dias foi diferente, pois uma leve inflamação à guta-percha ainda estava presente, mas nenhuma inflamação ao ionômero de vidro foi encontrada. O osso neoformado foi encontrado para os dois materiais, mais completamente formado no ionômero de vidro, onde se observou um crescimento ósseo sobre o cimento, enquanto uma

camada de tecido fibroso separou a guta-percha do osso, o que mostra uma reação do tecido à implantação do material.

ORSTAVIK; MIJÖR, em 1988, avaliaram a resposta do tecido aos materiais endodônticos, bem como a metodologia convencional para o estudo destes materiais, correlacionando a resposta do tecido aos elementos liberados dos implantes pela micro-análise em raio X. Os materiais testados foram Endométhasone, Procosol, AH26, cloropercha, Biocallex, pasta Kri I, Kerr PCS, Forfenan, N2 normal e Dyaket

Quarenta e oito ratos foram anestesiados com 0,07 mL de mebumal 10% para posterior tricotomia e incisão de 10mm de comprimento. Bolsas foram criadas a partir desta incisão, através de divulsão do tecido, para que tubos de polietileno fossem implantados com os materiais a serem testados. Os tubos tinham 1,4mm de diâmetro interno, 1,6mm de diâmetro externo, e 10,0mm de comprimento.

Os ratos foram sacrificados após 14 e 90 dias pela exposição ao gás carbônico. A pele foi novamente tricotomizada e uma área de 20x20mm contendo o implante foi excisada e fixada em formalina 10% por 48 horas. O processamento histológico se deu com cortes de 5 a 7 micrômetros e coloração com HE. A reação foi graduada em nenhuma, severa e extrema inflamação.

As reações do tecido diferenciaram marcadamente em intensidade, extensão e características celulares. Para os materiais resinosos foi notada uma reação de baixa intensidade, já os materiais à base de óxido de zinco e eugenol

desenvolveram uma reação mais intensa e os materiais à base de clorofórmio e do tipo de 2 pastas, a reação foi mais favorável.

A análise ao raio X revelou componentes dos materiais na cápsula conjuntiva para a maioria dos materiais investigados. Os cimentos AH26 e Hydron (à base de resina) foram rodeados por macrófagos que fagocitavam os componentes metais pesados. Os materiais à base de óxido de zinco e eugenol, bem como aqueles à base de clorofórmio, dispersaram partículas de tamanho muito grande para a fagocitose mononuclear.

Concluíram que a metodologia é bem sucedida para a avaliação dos implantes de materiais endodônticos e que os cimentos à base de resina foram altamente irritantes em 14 dias, mas levemente em 90 dias. Já os implantes à base de óxido de zinco e eugenol foram moderadamente irritantes inicialmente e a irritação persistiu por um período maior.

TAGGER; TAGGER; KFIR, em 1988, estudaram a liberação de cálcio e hidroxila de cimentos endodônticos após a presa, para verificar a disponibilidade destes íons. Os cimentos testados foram Sealapex, CRCS e Hermetic, sendo que o Life e Dycal que não são cimentos endodônticos serviram como controle.

Dois corpos de prova de cada cimento foram confeccionados com a utilização de uma matriz de teflon com aproximadamente 7mm de diâmetro e 3mm de profundidade. Após 24 horas, cada corpo de prova foi colocado em recipientes com 15mL de água bi-destilada (ph=6,7) e aguardou-se 15 minutos, quando foram retiradas e colocadas em um novo recipiente com a mesma quantidade de água

pura, pelo mesmo tempo, este procedimento foi repetido por 2 horas consecutivas. Então, 0,2mL da solução de cada tubo foram centrifugados e analisou-se a liberação de cálcio. A solução remanescente dos tubos foi utilizada para medição do pH.

O padrão de liberação dos íons diferiu nos três cimentos, sendo que o Sealapex teve uma dissolução dos corpos de prova alterando a curva descendente de liberação dos íons. Os cimentos Life e Dycal permaneceram alcalinizando o meio mesmo após ter cessada a liberação de cálcio. Já o Hermetic descarregou rapidamente o hidróxido de cálcio, enquanto a liberação do CRCS foi insignificante. O potencial de alcalinização foi mais durável que a liberação de cálcio em todos os três cimentos

BLACKMAN; GROSS; SELTZER, em 1989, avaliaram a resposta inflamatória e o potencial de reparo do osso e do tecido conjuntivo de ratos, quando se comparou a implantação de cimento de ionômero de vidro e cimento de óxido de zinco e eugenol.

Trinta ratos foram anestesiados pela inalação com éter para que a tíbia da perna fosse exposta por dissecação e um orifício fosse realizado. Durante todo o procedimento, uma irrigação copiosa foi realizada com solução salina para que ao final, um corpo de prova de Ketac-Endo ou IRM pudesse ser implantado. Implantes subcutâneos de amostras de cada material também foram feitos.

Oito animais foram sacrificados em 14 dias, outros em 30 dias e 12 após 80 dias usando-se doses de nembutal e perfusão cardíaca de solução formalina. Os

ossos e tecido mole foram removidos e o tecido duro descalcificado para posterior processamento histológico com cortes de 6 micrômetros e corados com HE.

A reação inflamatória foi graduada dependendo do número de células inflamatórias : grau 1 até 24 células; grau 2 de 25 a 124 células; grau 3 mais de 125 células inflamatórias. A atividade osteoclástica, as presenças de tecido de granulação e reação de corpo estranho com material fagocitado também foram observadas e tabuladas.

A resposta para cada material inicialmente e após 30 dias foi leve. Nenhuma resposta severa foi notada em nenhum dos grupos. Em 80 dias, embora uma reação leve tenha persistido, os materiais pareceram ser bem tolerados. A aposição de tecido ósseo ocorreu no grupo do ionômero de vidro com prata, já no grupo do óxido de zinco e eugenol, uma fibrose foi identificada.

Concluíram que ambos os materiais podem ser utilizados como materiais retrobturadores devido à relativa biocompatibilidade e que as propriedades do Ketac-Silver, incluindo adesividade ao dente e radiopacidade são desejáveis.

SAFAVI et al, em 1989, desenvolveram um método para avaliar continuamente os efeitos biológicos das amostras dos materiais.

Os cimentos utilizados foram Pulp Canal Sealer, AH26, Tubliseal, os quais foram testados em uma nova câmara de cultura de células. As amostras foram avaliadas imediatamente após a manipulação e após um período de tempo mais extenso.

Não houve diferença entre a liberação de radio-cromo entre Tubliseal e o grupo controle. O Pulp Canal Sealer e AH26 foram significativamente mais tóxicos que o Tubliseal e o controle nos períodos de 0, 24 e 48 horas. A toxicidade do Pulp Canal Sealer foi levemente maior que o AH26 nos períodos de 0 e 24 horas. Após 48 horas de manipulação, os valores de liberação de crômio radioativo para o Pulp Canal Sealer e AH26 foram menores que os obtidos com Tubliseal e controle, embora as diferenças não tenham sido estatisticamente significantes. Em 72 horas, os valores de liberação de crômio radioativo foram similares nos três grupos e esses valores não diferiram com 522 horas. Nenhuma radioatividade foi notada nas amostras após o experimento.

Concluíram que um “ranking” pode ser feito a partir deste método experimental.

PASCON et al, em 1991, desenvolveram métodos e critérios para testar a biocompatibilidade de materiais endodônticos.

Cento e um dentes de bugios foram usados para testar três materiais: AH26, Kerr Pulp Canal Sealer e cloropercha. Sob condições de assepsia, o acesso e a preparação foram feitos nos canais com extensão aproximada de 1,0mm aquém do forame apical, para serem obturados com guta-percha e cimento pela técnica da condensação lateral.

A reação apical foi avaliada em 1, 7, 30, 365, 730 e 1095 dias. Levando-se em conta: 1- a transição entre os componentes remanescentes no canal radicular, debris, parede, e tecido periapical adjacente; 2- presença de atresamento e

curvaturas do canal; 3- presença de aposição ou reabsorção das paredes; 4- presença e localização de bactérias; 5- ocorrência de inflamação aguda ou crônica; 6- presença de partículas em macrófagos; 7- degeneração de células inflamatórias; 8- alterações vasculares.

Os métodos e critérios usados foram adequados para estabelecer um “ranking” de biocompatibilidade dos materiais testados em pequenos e longos intervalos de tempo. Uma observação a curto prazo (1 a 7 dias) do AH26 causou severa reação e o Kerr Pulp Canal Sealer e cloropercha uma moderada e leve reação respectivamente. No período de 2 a 3 anos o “ranking” foi: AH26 e Kerr Pulp Canal Sealer com moderada reação e cloropercha com severa reação.

Concluíram que 1- uma direta correlação dos resultados deste estudo com outros não pôde ser estabelecido; 2- não é possível um “ranking” dos materiais em médias.

MOLLOY et al, em 1992, avaliaram a resposta aos cimentos resinosos do tecido conjuntivo de ratos. Os materiais testados foram uma resina experimental, resina experimental com prata, comparados com os controles Sealapex, Kerr sealer, AH26, cimento Roth.

Dez ratos foram anestesiados com éter e a área do implante tricotomizada. Após a desinfecção com povidine, incisões de 10 mm foram realizadas, 2 nas escápulas, 2 no quadril, e 2 no abdômen, para que bolsas fossem confeccionadas e tubos de polietileno preenchidos com os materiais fossem implantados. Os materiais tiveram 24 horas para tomarem presa antes da implantação.

Dois ratos foram sacrificados a cada período de tempo 3, 10, 20, 30, e 60 dias, quando os blocos do tecido foram removidos contendo o tubo e fixados em formalina para processamento histológico com cortes de 6 micrômetros e coloração HE.

Em cada período de tempo praticamente não houve diferenças na reação dos cimentos; em 60 dias houve uma cura com pouca inflamação, o que indica uma boa biocompatibilidade de todos os materiais.

ORSTAVIK; MJÖR, em 1992, avaliaram e compararam a resposta histológica de canais de dentes de macaco preenchidos com diferentes cimentos endodônticos (AH26, Endométhazone, Kloropercha e Procosol).

Para o experimento foram utilizados 4 macacos com a dentição permanente completa. Além dos dentes anteriores e pré-molares foram utilizadas as raízes linguais dos molares superiores. Os animais foram tratados sob anestesia geral, os dentes foram isolados, abertos e as polpas removidas. Os canais radiculares foram preparados com alargadores e irrigação com hipoclorito de sódio 0,5%, secos com pontas de papel que foram incubadas em câmara de anaerobiose. Os canais foram obturados pela técnica da condensação lateral. As câmaras pulpares foram seladas com cimento de óxido de zinco e eugenol de presa rápida e o acesso restaurado com amálgama.

Dois animais foram mantidos pelo período de um mês e dois pelo período de 6 meses de observação, quando os animais foram sacrificados e fixados com

formol tamponado por perfusão. Os dentes, e tecidos adjacentes foram removidos e processados histiologicamente, com coloração HE e Brown e Brenn.

A presença de necrose na polpa remanescente foi graduada como nenhuma, superficial (<1 mm), parcial, ou total; a presença de inflamação periapical como nenhuma, menor (<1 mm), moderada (de 1mm a 3mm), ou severa (>3mm); o grau de inflamação foi graduado em leve (predominância de células crônicas), moderada (acúmulo localizado de células no tecido, mas sem necrose), ou severa (áreas de necrose com células inflamatórias). A presença de bactérias foi notada pela coloração Brown e Brenn. As radiografias tomadas ao final dos períodos de observação foram analisadas para verificação de sinais de inflamação de acordo com a graduação: de 1 (nenhum sinal) a 5 (periodontite apical com sinais de exacerbação).

As radiografias indicaram áreas sugestivas de lesão patológica em 6 das 60 raízes, sendo que 4 no período de 1 mês e 2 no período de 6 meses. Inflamação periapical foi observada no exame histopatológico em 17 raízes, sendo que 11 após 1 mês e 6 após 6 meses. O exame histológico e radiográfico da inflamação periapical foi significativo ($p < 0,01$, χ^2) no período de 6 meses de observação. Nenhum granuloma ou cisto foi evidenciado no exame histopatológico. A magnitude da resposta inflamatória pareceu não estar relacionada ao cimento endodôntico usado, e vários focos inflamatórios não foram relacionados com corpos estranhos no tecido. As amostras bacteriológicas mostraram crescimento em 9 das 60 raízes, mas a presença de bactérias cultiváveis não foi relacionada às alterações inflamatórias. A demonstração

histológica de bactérias foi possível em 4 raízes, todas associadas a reações inflamatórias periapicais. O método aplicado neste estudo não proveu uma discriminação sensível entre os materiais endodônticos com composições amplamente diferentes.

TEPEL; EL SAWAF; HOPPE, em 1994, avaliaram histologicamente em molares de ratos os efeitos dos agentes antibacterianos e dos cimentos endodônticos em induzir lesão periapical. Os cimento utilizados foram: Aptal-Zinc-Harz, N2 e Endométhasone.

Para o experimento foram utilizadas raízes mesiais de molares inferiores de rato. Os dentes após a abertura coronária e remoção pulpar foram deixados abertos. Depois de 6 dias as raízes foram instrumentadas com limas #25, peróxido de hidrogênio 3% foi utilizado como irrigante, e os canais foram preenchidos com o medicamento ou com o cimento endodôntico. Os antimicrobianos foram: clorofenol e cânfora; paramonoclorofenol canforado, hipoclorito de sódio 5% e 12%; suspensão aquosa de hidróxido de cálcio, combinação de corticóide e antibiótico. Os medicamentos foram colocados no canal e os acessos cavitários selados com amálgama. Após 3 dias, os curativos foram trocados e as cavidades seladas novamente com amálgama e os medicamentos deixados por mais três dias.

Os canais foram preenchidos somente pelo cimento e as cavidades de acesso foram preenchidas por amálgama. As raízes foram deixadas por 21 dias *in situ*, com exceção do grupo do Aptal-Zinc-Harz, que foi deixado por 56 dias.

Os animais foram sacrificados e o primeiro molar juntamente com o tecido ósseo adjacente foi removido, descalcificado, incluído, cortado e corado. Obteve-se como resultado que o clorofenol causou danos periapicais, Paramonoclorofenol canforado e hipoclorito de sódio promoveram menor lesão periapical. Já o hipoclorito de sódio a 12 % promoveu danos ao tecido periapical. A medicação com solução aquosa de hidróxido de cálcio em suspensão promoveu um claro reparo periapical. A combinação de corticóide e antibiótico pareceu induzir dano periapical. Os cimentos endodônticos Endométhasone e N2 prejudicaram o reparo periapical. Os resultados foram aceitáveis para o Aptal-Zink-Harz após 21 e 56 dias.

ECONOMÍADES et al, em 1995, estudaram a biocompatibilidade de 4 cimentos obturadores, 2 contendo hidróxido de cálcio (CRCS e Sealapex), 1 à base de óxido de zinco e eugenol (Roth 811) e 1 à base de resina epóxica (AH26). Estudaram também a influência dos componentes dos materiais na concentração de cálcio e zinco dos órgão do rato.

Setenta e sete ratos foram anestesiados com pentobarbitol de sódio (0,026g/Kg de peso do animal). Após a tricotomia e desinfecção com 5% de iodine em etanol, foram feitas incisões no dorso do animal e 2 bolsas foram preparadas com 15,0mm de profundidade. Tubos de teflon com 5,0mm de comprimento e 1,6mm de diâmetro interno contendo os materiais em teste foram implantados no interior das bolsas já preparadas, tomando o cuidado para evitar que o material se

espalhasse pelo tecido. Tubos vazios foram utilizados para controle e as incisões foram suturadas com fio cirúrgico.

Os períodos de observação foram de 7, 14 e 21 dias, quando os animais foram sacrificados pela inalação de éter, os tubos removidos juntamente com o tecido adjacente e fixados em formalina 10% para posterior processamento histológico. Os cortes seriados foram de 6 micrômetros de espessura e a coloração foi HE e Brown e Brenn. A reação foi graduada em leve, moderada e severa.

Para a análise e determinação do cálcio e zinco, 25 animais foram sacrificados em 1 semana após a implantação e o fígado, cérebro, rins e útero foram removidos e congelados a -18°C até a análise.

Aos 7 dias o material mais irritante foi o AH26, contudo esta reação diminuiu com o tempo. O Roth 811 e o Sealapex causaram de moderada a severa reação, enquanto o CRCS causou de leve a moderada. O CRCS e o Roth 811 induziram distribuição de zinco e o AH26 induziu mudanças no conteúdo de cálcio nos órgãos.

GEROSA et al, em 1995, avaliaram a toxicidade de 6 diferentes cimentos endodônticos usando cultura de células (fibroblastos gengivais).

Os cimentos utilizados para o experimento foram: AH26, Pulp Canal Sealer, Rocanal R2, Rocanal R3, Bioseal, e Endométhasone. Para cada cimento, foram feitos 30 corpos de prova com teflon preenchido pelo cimento, os quais foram imersos em PBS por 1 e 2 semanas para se obter as soluções teste, estas

soluções foram então cultivadas pelos períodos de 24, 48 e 72 horas. A toxicidade foi determinada pela medida em espectrofotômetro. Uma severa citotoxicidade foi observada nas soluções de AH26 de 1 e 2 semanas. Pulp Canal Sealer e Endométhasone mostraram baixa citotoxicidade nas soluções de 1 e 2 semanas e culturas de 24, 48 e 72 horas. Moderada citotoxicidade foi observada nas soluções de 1 e 2 semanas do Bioseal exceto nos períodos de cultura de 48 e 72 horas para a solução de 1 semana. Rocanal R2 mostrou severa citotoxicidade na solução de 1 semana nos períodos de 48 e 72 horas, e na solução de 2 semanas em todos os períodos. Moderada citotoxicidade foi observada nas soluções de 1 e 2 semanas de Rocanal R3 somente no período de cultura de 24 horas.

MITTAL; CHANDRA; CHANDRA, em 1995, avaliaram a resposta do tecido de ratos a quatro cimentos endodônticos: óxido de zinco e eugenol, Tubliseal, Sealapex e Endoflas.

Quinze ratos foram anestesiados e cinco círculos foram feitos no dorso de cada animal. As áreas foram tricotomizadas e limpas com água e sabão e então álcool absoluto, para a injeção de 0,1mL de cada cimento com agulha G-18.

Dois animais foram sacrificados a cada intervalo de tempo - 48 horas, 7 dias, 14 dias, 1 mês e 3 meses, por sobredose de éter. Os blocos de tecido foram removidos e fixados em formalina 10%, para processamento histológico padrão.

A reação inflamatória foi graduada dependendo do número de células inflamatórias: Grau 0 - nenhuma célula; grau 1 - 24 células, grau 2 - 25 a 125, grau 3 - acima de 125. A predominância de células, localização e difusão da

inflamação, presença de necrose, edema, densidade de fibroblastos e formação de cápsula fibrosa também foram tabulados.

O exame do tecido revelou que todos os cimentos mostraram alguma inflamação que decresceu com o tempo, exceto o óxido de zinco e eugenol que aumentou a inflamação de 48 horas para 7 dias e depois decresceu. O Sealapex mostrou a menor reação inflamatória, moderada em 48 horas e leve nos demais períodos. Nenhuma resposta foi vista em 3 meses em relação a nenhum cimento.

SCHWEIKL et al, em 1995, testaram a atividade mutagênica do cimento endodôntico AH26 utilizando o sistema V79/hprt.

O AH26 foi avaliado logo após a manipulação e após os períodos de presa de 24 horas e 7 dias. Diferentes quantidades de AH26 diluído em dimetil sulfóxido e solução salina foram também testadas. O AH26 foi tóxico e mutagênico e o grau variou dependendo do tempo de presa. O número de células mutantes após a exposição ao Ah26 sem presa foi aumentado de 7 para 10, enquanto que a atividade mutagênica diminuiu claramente após a presa de 1 semana. O AH26 diluído em solução salina foi tóxico em doses altas, mas não teve efeito mutagênico. Já quando diluído em dimetil sulfóxido mostrou efeito mutagênico semelhante ao AH26 fresco.

Concluíram que este método pode ser utilizado rotineiramente para avaliação de materiais dentárias em novos trabalhos.

KOLOKOURIS et al, em 1996, estudaram comparativamente a biocompatibilidade entre o Ketac-Endo e o Tubliseal.

Para tanto, 44 ratos foram anestesiados com pentobarbitol de sódio (0,026g/Kg de peso do animal). Após a tricotomia e desinfecção com 5% de iodine em etanol, foram feitas incisões no dorso do animal e 2 bolsas foram preparadas com 15mm de profundidade. Tubos de teflon com 5mm de comprimento e 1,6mm de diâmetro interno contendo os materiais recém manipulados, foram implantados no interior das bolsas já preparadas. Tubos vazios foram utilizados para controle e as incisões foram suturadas com fio cirúrgico.

Ao final de 5, 15, 60, e 120 dias, 5 animais foram sacrificados, os tubos removidos juntamente com o tecido adjacente e fixados em formalina 10% para posterior processamento histológico. Os cortes seriados foram de 6 micrômetros de espessura e a coloração foi HE e Brown e Brenn. A reação foi graduada em leve, moderada e severa.

Uma reação leve foi observada com o Ketac-Endo em 5 dias, sendo que o tecido adjacente apresentou plasmócitos, linfócitos e macrófagos. A intensidade da reação diminuiu em 15 dias e continuou progressivamente diminuindo em 60 e 120 dias. Já ao Tubliseal, o tecido apresentou severa inflamação com diferentes extensões de necrose em 5 e 15 dias, apresentando-se irritante em 60 e 120 dias.

Concluíram que o Ketac-Endo é um material compatível e bem tolerado pelo tecido.

ANTÔNIO; MOURA, em 1997, avaliaram *in vitro* a capacidade selante da guta-percha combinada com diferentes cimentos endodônticos: N-Rickert, AH26, Sealapex e Ketac-Endo, analisando quantitativamente a infiltração marginal apical do azul de metileno em dentes humanos extraídos.

Foram seccionados 95 incisivos centrais superiores humanos extraídos, os quais foram imersos em hipoclorito de sódio 1% por 48 horas e mantidos em soro fisiológico por pelo menos 72 horas. Procedeu-se a abertura coronária e instrumentação até a lima 45 1,0mm aquém do forame apical e irrigação com Endo-PTC e hipoclorito de sódio 1%. Os dentes foram obturados com os cimentos e uma impermeabilização com Super-Bonder foi realizada em toda a raiz com exceção do forame apical.

Para se verificar a infiltração usou-se um sistema de imagens Duracon 3 e os resultados não mostraram diferença significativa entre os materiais, embora, o grupo do Ketac-Endo tenha revelado, na análise entre pares, maior nível significativo de infiltração do corante quando comparado aos outros 3 cimentos. As menores médias de infiltração foram observadas no grupo do N-Rickert.

COSTA et al, em 1997, estudaram comparativamente a biocompatibilidade das resinas TPH e Herculite XR, quando implantadas no tecido subcutâneo dorsal de ratos.

Vinte ratos foram anestesiados com hidrato de cloral a 10%, 14mL/100g de peso corpóreo do rato, intrapetritonealmente. Após a tricotomia a região dorsal do rato recebeu 1 incisão na linha média e duas bolsas foram criadas por divulsão

com 25mm de profundidade cada uma. Logo após, as resinas foram introduzidas no interior de tubos de polietileno, o qual teve uma das extremidades fechada a quente. Os tubos foram implantados nas bolsas já preparadas de forma a ficarem paralelos à incisão.

Após 7, 15, 30 e 60 dias, 5 animais foram anestesiados por inalação de éter sulfúrico e novamente tricotomizados para que a área dos implantes fosse removida, fixada em formalina 10% e levada ao processamento histológico. Os cortes seriados foram de 6 micrômetros de espessura e a coloração foi HE e Brown e Brenn. Procurou-se identificar áreas de necrose, neutrófilos células inflamatórias mononucleares, células gigantes, fibroblastos e formação de cápsula junto a abertura tubular.

Concluíram que os materiais precisam ter avanços nas propriedades biológicas, as quais ainda estão a desejar.

LEONARDO et al, em 1997, avaliaram histologicamente o reparo apical e periapical e dentes de cães após biopulpectomia e obturação dos canais com diferentes cimentos contendo hidróxido de cálcio.

Para o experimento, oito canais de pre-molares de 4 cães com polpa vital foram instrumentados e obturados com Sealapex, CRCS, Sealer 26 e Apexit. Os animais foram sacrificados 180 dias após a obturação dos canais e seus maxilares e mandíbulas foram removidos e fixados em formol 10%. Após o processamento histológico de rotina, os cortes foram corados pela Hemaossilina-Eosina e tricrômico de Mallory.

A análise histopatológica mostrou que o Sealapex foi o cimento que melhor permitiu a deposição de tecido mineralizado ao nível apical e foi o único cimento que promoveu o completo selamento (37,5% dos casos). Com o uso do Sealapex, nenhum infiltrado inflamatório ocorreu e não houve reabsorção de tecido mineralizado. Pelo contrário, um parcial selamento e moderado infiltrado inflamatório ocorreu com o uso do CRCS. Quando Apexit e Sealer26 foram utilizados ausência de selamento foi freqüente e ativa reabsorção de tecido mineralizado ocorreu na maioria dos casos. O infiltrado inflamatório predominante foi leve ou ausente.

VAJARABHARA; SITHISARN, em 1997, avaliaram a resposta de cultura de células (MU-mu-1) de múltiplas camadas com a de simples camada quando da utilização de 6 cimentos endodônticos (Apexit e Ah26, MU sealer, Rocanal 3, Rocanal2, e Endométhasone). Depois da incubação a 37°C em CO₂ 5% por 4 horas na presença de cada cimento, as células foram coradas com Sulforhodamina-B 0.4% para verificar a viabilidade das células.

Não houve diferenças estatisticamente significantes na porcentagem de células viáveis para cada cimento em ambas as culturas de mono células e multicélulas ($P > 0,01$). Apexit e Ah26 foram menos tóxicos ($p < 0,01$) que MU sealer, Rocanal 3, Rocanal2, e Endométhasone os quais demonstraram a mesma toxicidade ($p > 0,01$).

Os autores concluíram que o cimento endodôntico contendo hidróxido de cálcio, Apexit, foi menos citotóxico que os três cimentos a base de óxido de zinco

e eugenol em cultura de célula para biocompatibilidade; a resposta da cultura de multicélulas foi a mesma resposta da cultura de monocélulas; a pesquisa *in vivo* é ainda necessária para testes de toxicidade de novos materiais dentários.

VAJARABHARA et al, em 1997, avaliaram a Sulforhodamina-B (SRB) e a liberação de cromo como métodos para testar a citotoxicidade de seis cimentos endodônticos: cimento UM, Rocanal 2, Rocanal 3, Apexit, Endométhasone e AH26.

Ambas as técnicas indicaram que o Apexit foi o cimento menos citotóxico. Devido à facilidade de utilização do SRB para a viabilidade das células, este pode ser o método de escolha em relação à liberação de cromo, na avaliação de citotoxicidade dos cimentos endodônticos.

YOSHIKAWA et al, em 1997, estudaram a possibilidade de utilização clínica de um novo cimento endodôntico composto de fosfato tetracálcio, didrato de dicálcio fosfato, e solução tamponada de McIlvain (TDM). Um outro cimento que utiliza solução tamponada adicionada a 2,5% de condroitin sulfato (TDMS) foi também estudado. As respostas aos cimentos TDM e TDM-S foram histologicamente comparadas com um outro tipo de cimento de fosfato de cálcio (ARS), o qual é comercialmente disponível no Japão, em tecido subcutâneo de ratos e em tecido periapical de ratos.

TDM e TDM-S não causaram reação inflamatória em tecido subcutâneo. O tecido periapical reagiu levemente a eles. O cimento ARS causou severa reação inflamatória em ambos os tecidos.

Estes resultados indicam que TDM-S tem uma excelente histocompatibilidade e potencial para ser utilizado como cimento endodôntico.

KOLOKOURIS et al, em 1998, avaliaram *in vivo* a biocompatibilidade do Apexit e Pulp Canal Sealer após a implantação em tecido conjuntivo de ratos.

Quarenta e quatro ratos Wistar-Futh foram utilizados. Cada cimento foi colocado em tubos de teflon e implantados em locais específicos do dorso do animal. Os implantes foram removidos após 5, 15, 60, e 120 dias; fixados e preparados histologicamente para avaliação microscópica. O estado do tecido adjacente, a ocorrência e localização do tecido fibroso, os vários tipos de células inflamatórias e as alterações vasculares foram examinados. A reação tecidual foi graduada em leve, moderada e severa.

Severas reações inflamatórias com diferentes extensões de necrose foram observadas com Apexit ao quinto e décimo quinto dias. A intensidade da reação diminuiu no sexagésimo dia e esta redução continuou diminuindo progressivamente até o centésimo vigésimo. Foi caracterizado pela presença de tecido conjuntivo com poucos macrófagos. Moderada a severa inflamação foi observada nos espécimes de Pulp Canal Sealer ao quinto dia. A intensidade de reação diminuiu aos 15°, 60° e 120° dias, mas permaneceu levemente maior que Apexit nos período de observação maiores.

KOLOKOURIS et al, em 1998, investigaram se o cimento endodôntico Roth 811 injetado em tecido de rato é capaz de causar translação de zinco, cobre e cálcio no período de 1 a 7 dias após a injeção no organismo do rato. Além disso, a reação tecidual do Roth 811 foi testada nos mesmos períodos.

Para o experimento foram utilizados 70 ratos Wistar-Furth. Os ratos receberam 0,1mL do cimento manipulado na região torácica dorsal. A cada dia a partir da injeção, 10 animais foram sacrificados e o fígado, coração, rins e cérebro foram removidos e analisados para cobre, cálcio e zinco pelo espectrofotômetro de absorção atômica. O tecido ao redor dos locais de injeção foram também cirurgicamente removidos e histologicamente preparados para análise em microscópio.

A injeção do Roth 811 significativamente afetou as concentrações de zinco, cálcio e cobre em alguns dos órgãos, especialmente no 4º e 5º dias. A reação inflamatória adjacente ao material foi severa durante os 3 primeiros dias enquanto, ao 7º dia a presença de tecido conjuntivo com formação colágena foi observado.

LEONARDO et al, em 1998, compararam 2 cimentos endodônticos : Ketac-Endo (ionômero de vidro) e Fill Canal (óxido de zinco e eugenol).

Para o experimento foram utilizadas 34 raízes de pré-molares de cães com polpas vitais. Após a instrumentação os canais foram obturados com Ketac-Endo ou Fill Canal e guta-percha pela técnica da condensação lateral. Após 270 dias, os animais foram sacrificados e a maxila e as mandíbulas foram removidas e

fixadas em formol por 48 horas. Processou-se as amostras conforme a rotina histológica e os cortes corados pela Hematoxilina-Eosina e tricrômico de Mallory.

A análise microscópica revelou que o cimento Ketac-Endo apresentou melhores resultados que o cimento Fill Canal, pois quando da utilização deste último houve menos formação de tecido duro associado à permanente inflamação e extensas áreas de reabsorção.

OSÓRIO et al, em 1998, utilizaram de cultura de células (fibroblastos gengivais humanos e células L-929) para medir a citotoxicidade de alguns cimentos endodônticos: Endomet, CRCS e AH26; bem como alguns materiais para obturação retrógrada: amálgama, Gallium GF2, Ketac Silver, MTA, Super-Eba e All Bond 2.

A análise estatística dos resultados mostrou que o cimento CRCS foi o menos citotóxico seguido pelo Endomet e AH26. Entre os materiais para obturação retrógrada, o MTA não foi citotóxico; Gallium GF2 mostrou pouca citotoxicidade; e Ketac Selver, Super-Eba, e amálgama mostraram altos índices de citotoxicidade.

CRCS foi o melhor cimento endodôntico e MTA o melhor material para obturação retrógrada. O resultado foi favorável também ao Gallium GF2 como material para obturação retrógrada.

SERPER, et al, em 1998, investigaram os efeitos neurotóxicos dos cimentos endodônticos: Endométhasone, N2 Universal, Traitment SPAD, Sealapex, e CRCS em nervo ciático isolado de ratos.

Todos os cimentos inibiram irreversivelmente o potencial de ação do nervo ciático. N2 Universal produziu 50% de inibição em $4,2 \pm 0,2$ min. Traitment SPAD, Endométhasone, e CRCS produziram a mesma inibição em $6,4 \pm 0,3$, $6,5 \pm 0,2$ e $6,6 \pm 1,1$ min, e Sealapex em $9,2 \pm 2,0$ min. O efeito inibitório do Sealapex decresceu rapidamente, e 43% de reversão foi observado em 60 a 70 minutos. Os efeitos inibitórios do Endométhasone, CRCS, e N2 Universal foram mais pronunciados, proporcionando 10 a 20% de reversão em 2 horas. O efeito inibitório do Traitment SPAD foi mais persistente com 4% de reversão em 2,5 horas.

LEYHAUSEN et al, em 1999, se propuseram a determinar a citotoxicidade e genotoxicidade do cimento endodôntico AH-Plus.

Foram utilizados o teste da inibição do crescimento de cultura de fibroblastos de ligamento periodontal humano e 3T3 permanente em monocamada, o teste procariótico umu, o teste eucariótico de inibição da síntese de DNA, e o teste de filtro alcalino *in vivo*. Além disso, o teste Ames foi realizado com extrato de AH-Plus.

O cimento AH-Plus causou nenhuma ou somente leve injúria celular. Além disso, nenhuma genotoxicidade ou mutagenicidade foi revelada.

Estes dados deveriam ser levados em consideração quando da escolha de um cimento endodôntico.

PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi avaliar histologicamente a resposta inflamatória do tecido subcutâneo de ratos após a implantação de tubos de polietileno contendo os seguintes cimentos endodônticos – Endométhasone, Pulp Canal Sealer e AH-Plus.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL

ANIMAIS

Para o experimento foram utilizados 24 ratos "Wistar" (*Rattus norvegicus*), adultos, da mesma linhagem, pesando em média 250 gramas, provenientes do Biotério da Universidade Estadual de Campinas-Unicamp, mantidos em gaiolas coletivas, recebendo água "ad-libitum" e alimentação constituída de ração balanceada.

CIMENTOS

Foram utilizados o Endométhasone (Specialites Septdont-França), AH-Plus (Dentsply.- Suíça) e Pulp Canal Sealer (Syborn Kerr – Michigan, USA) com a seguinte composição e proporção:

ENDOMÉTHASONE

óxido de zinco	471,0mg
dexametasona	0,1mg
acetato de hidrocortisona	10,0mg
di-iodotimol	250,0mg
paraformaldeído	22,0mg
óxido de chumbo	50,0mg
sulfato de bário	1,0g

estearato de magnésio	1,0g
subnitrato de bismuto .	1,0g

AH PLUS

Pasta A

Resina epóxica
Tungstato de Cálcio
Óxido de Zircônio
Óxido de ferro
Aerosil

Pasta B

Adamanteneamina
N1N-Dibenzyl-5-oxanonane-diamino-1,9
TCD-diamino
Tungstato de cálcio
Óxido de Zircônio
Aerosil
Silicone

PULP CANAL SEALER

Pó

Prata precipitada.....30g
Óxido de Zinco.....41,21g
Aristol.....12,79g
Resina branca.....16g

Líquido

Essência de cravo.....78cc
Bálsamo do Canadá.....22cc

TUBOS DE POLIETILENO

Foram utilizados 96 tubos de polietileno com 1,5mm de diâmetro interno, 2,0mm de diâmetro externo e 10,0mm de comprimento, esterilizados em autoclave.

ANESTÉSICO

Para anestesia dos animais foi utilizado pentobarbital de sódio 65mg/ml com injeção intraperitoneal na dose de 5,1mg/100g de peso do animal.

MÉTODOS

Após a anestesia, foi feita antissepsia de toda região dorsal do animal com tintura de iodo a 2% antes e após a tricotomia, que foi realizada com tesoura e loção depilatória (One Touch – E.U.A.)

Foram utilizados 96 tubos de polietileno, esterilizados em autoclave, que tiveram uma das extremidades seladas a quente para serem, então, preenchidos com o cimento.

Para a preparação dos corpos de prova, os cimentos foram manipulados segundo as especificações do fabricante com exceção do Endométhasone que foi manipulado na proporção de 0.19g de pó de Endométhasone para cada gota de líquido de eugenol, e introduzido no interior do tubo com auxílio de uma seringa Centrix (DFL Indústria e Comércio – Brasil).

Uma punção foi feita de cada lado da linha média do dorso do animal para que um instrumento rombo fosse inserido com o objetivo de divulsionar o tecido, separando o tecido cutâneo do conjuntivo, tomando-se o cuidado de não perfurar ou dilacerar os tecidos. Criou-se para cada punção duas lojas, uma para a direção craniana e outra para a posição caudal. Então, os corpos de prova foram levados para a intimidade da loja cirúrgica com auxílio de um trocart de tal forma que cada rato recebeu 3 corpos de prova contendo cada uma um cimento diferente mais 1 tubo vazio que serviu de controle. O local das incisões foi suturado com fio seda 4.0 (Ethicon).

Obedeceu-se uma ordem na colocação dos tubos preenchidos por cimento de tal forma que se pudesse identificar os cimentos pela área de implantação. Desta forma, os cimentos Endométhasone e AH-Plus ocuparam as lojas mais cranianas e o Pulp Canal Sealer as lojas mais caudais (ordem de Implantação 1). Além disso, houve uma rotatividade dos cimentos em relação à área, ou seja, os cimentos que ocuparam a posição mais craniana foram substituídos pelos que ocupavam a posição mais caudal e vice-versa (ordem de implantação 2). Para distinguir os ratos que tiveram a implantação 1 da 2, as orelhas esquerdas dos ratos que tiveram a implantação 1 receberam um picote. Este procedimento foi realizado devido a região lombar apresentar mais tecido adiposo que a região mais craniana.

Após a implantação, os ratos foram colocados em gaiolas e mantidos no laboratório até a completa recuperação do efeito anestésico, e levados ao biotério

até que se completassem os períodos de observação, que foram de 3, 7 e 30 dias.

Decorridos os períodos pré-determinados, os animais foram sacrificados utilizando-se doses excessivas de pentobarbital de sódio com injeção intraperitoneal. Após a tricotomia e antissepsia, os corpos de prova foram localizados por palpação e removidos em blocos contendo os tecidos epitelial, conjuntivo e muscular e fixados em solução de Bouin em temperatura ambiente por 24 horas, quando foram colocados em formol tamponado a 10% até o momento de serem processados para inclusão em glicol metacrilato.

Os tubos foram localizados no interior dos blocos e divididos com auxílio de lâmina de barbear em dois segmentos através de uma secção transversal, perpendicular ao longo eixo deste tubo tentando atingir a sua metade. A metade do bloco que continha a extremidade selada do tubo foi desprezada. O outro segmento foi seccionado longitudinalmente, obtendo-se duas hemi-metades, o que permitiu uma exposição direta dos tecidos e do cimento do interior do tubo às soluções de processamento histológico.

INCLUSÃO EM GLICOL METACRILATO

Os espécimes deste grupo foram lavados em água corrente pelo período de 5 horas para remoção da solução de fixação e desidratados em álcool em concentrações crescentes: álcool 70% pelo período de uma noite, no dia

seguinte, álcool 90% em 3 trocas de 30 minutos e álcool 95% em 3 trocas de 30 minutos.

Para o método de inclusão em glicol metacrilato foi utilizado o Kit JB4 (Polysciences Inc), que é constituído de Solução A, Ativador e Solução B. As peças desidratadas foram então, colocadas na Solução A ativada (0,9 mg de Ativador para cada 100mL de Solução A) e deixadas para infiltrar à temperatura ambiente por 72 horas, quando foram levadas para inclusão.

Para inclusão, moldes de plástico de 1,0mL de capacidade foram cobertos com uma camada de Teflon em “spray”, o que impede a adesão do glicol metacrilato ao molde e controla o aquecimento durante a polimerização. Os moldes foram preenchidos pela solução de inclusão (0,04 mL da solução B para cada mL da Solução A ativada).

As peças foram colocadas no interior dos moldes já cobertos pelo Teflon para o preenchimento com a solução de inclusão. Cada molde foi coberto com resina autopolimerizável para evitar o contato do glicol metacrilato com o oxigênio do ar, pois este dificulta a reação normal da resina. Sob os moldes foi colocada uma barra de gelo para que a reação exotérmica pudesse ser controlada, desta forma, evitou-se a formação de bolhas no interior da resina.

Aguardou-se 2 horas para que a polimerização se completasse, quando os blocos de glicol metacrilato contendo os espécimes foram cortados com lâmina de tungstênio em micrótomo comum na espessura de 3 μ m, de forma longitudinal ao longo eixo do tubo.

Os cortes foram colocados diretamente sobre a lâmina contendo uma gota de água deionizada para que espalhassem sem necessidade de passar por água quente e sem necessidade de albumina para prendê-los à lâmina. As secções foram corados pelo métodos de Hematoxilina e Eosina e com uma pequena modificação, ou seja, o tempo de permanência nas soluções foi aumentado devido a maior dificuldade do corante se difundir pela secção, haja vista que a resina não é removida durante o processo de coloração como é feito com a parafina.

AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

As lâminas foram analisadas em microscópio óptico levando-se em consideração as células do processo inflamatório (neutrófilos, macrófagos, linfócitos, plasmócitos, células gigantes), formação e continuidade da cápsula fibrosa (avaliada pelo grau de maturação e organização tecidual), presença de necrose, presença de fragmentos de cimento no tecido conjuntivo.

RESULTADOS

Análise Microscópica

Pulp Canal Sealer

Com três dias de implantação do cimento Pulp Canal Sealer, o tecido apresentou uma reação na embocadura do tubo com poucas células inflamatórias crônicas e alguns neutrófilos, fibroblastos e algumas fibras colágenas. A cápsula fibrosa ainda não estava presente neste período experimental, também não houve a presença de células gigantes, nem a presença de necrose e de fragmentos de cimento no conjuntivo (Fig.1 e Fig.2).

Com 7 dias, pode-se observar uma resposta muito leve com infiltrado inflamatório crônico predominantemente. Neste período, o tecido ainda estava num estágio muito inicial de organização. Foi verificado presença de uma camada hialina separando o tecido do cimento compatível com rede de fibrina. Ausência de necrose e de cápsula fibrosa também foram notadas. Não houve a presença de células gigantes, nem a presença de necrose e fragmentos de cimento no conjuntivo (Fig.3 e Fig.4).

Com 30 dias de implantação, observou-se um tecido fibroso bem organizado, presença de camada hialina compatível com rede de fibrina entre o material e o tecido que continha poucas células inflamatórias crônicas. Ocorreu, em alguns cortes, presença de células gigantes com material fagocitado. Não foi observado necrose tecidual (Fig.5 e Fig.6).

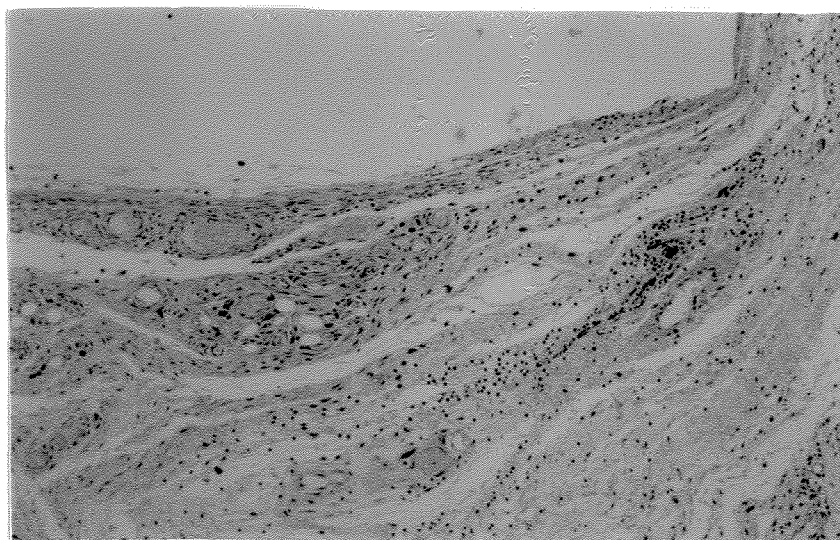


Fig.1- Pulp Canal Sealer, 3 dias (HE, 10x) – leve reação inflamatória.

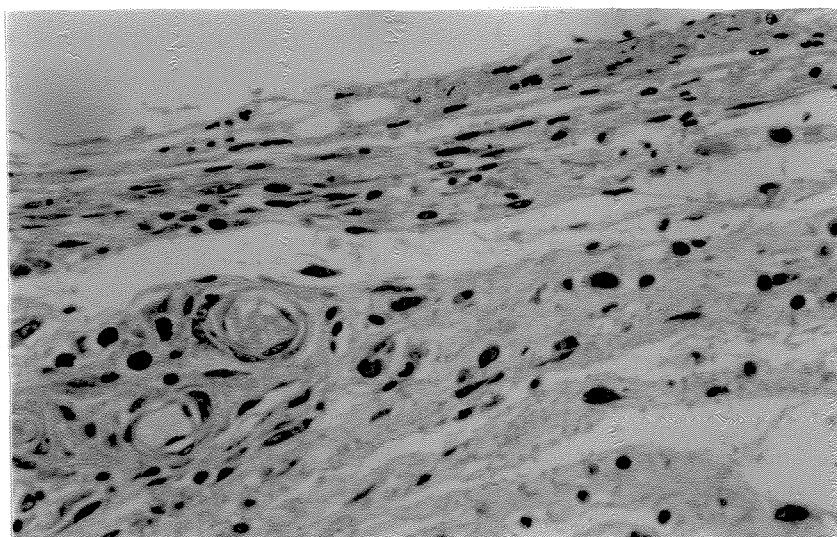


Fig.2- Pulp Canal Sealer, 3 dias (HE, 40x) - presença de neutrófilos e macrófagos, ausência de cápsula fibrosa, de células gigantes e de fragmentos do cimentos.

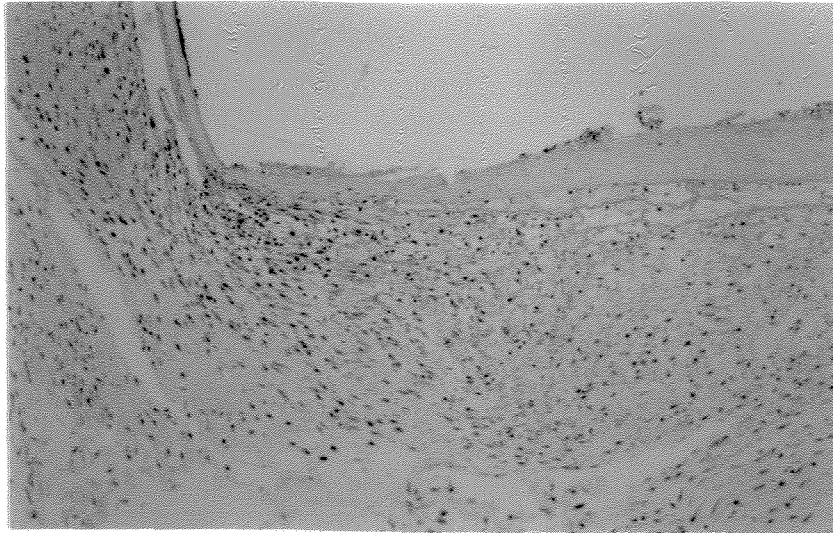


Fig.3- Pulp Canal Sealer, 7 dias (HE, 10x) - estágio inicial de organização tecidual com leve resposta inflamatória.

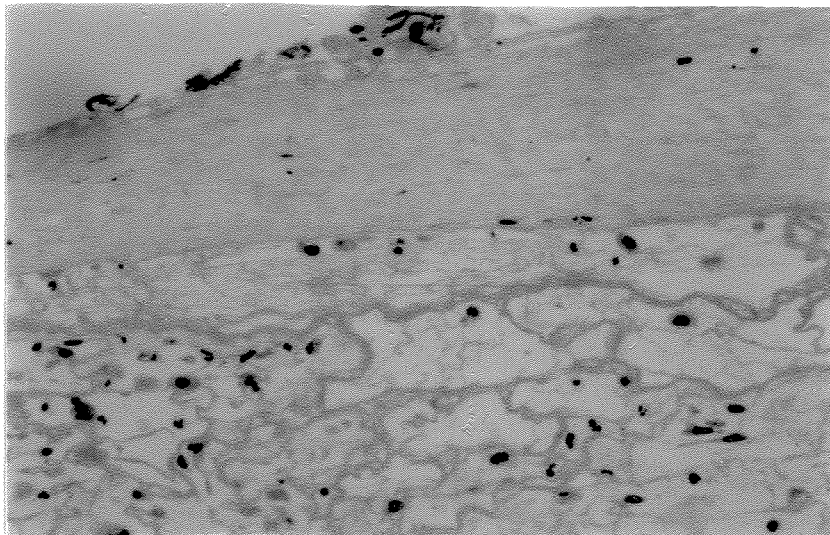


Fig.4- Pulp Canal Sealer, 7 dias (HE, 40x) - presença de poucas células inflamatórias mononucleares, camada hialina com ausência de necrose.

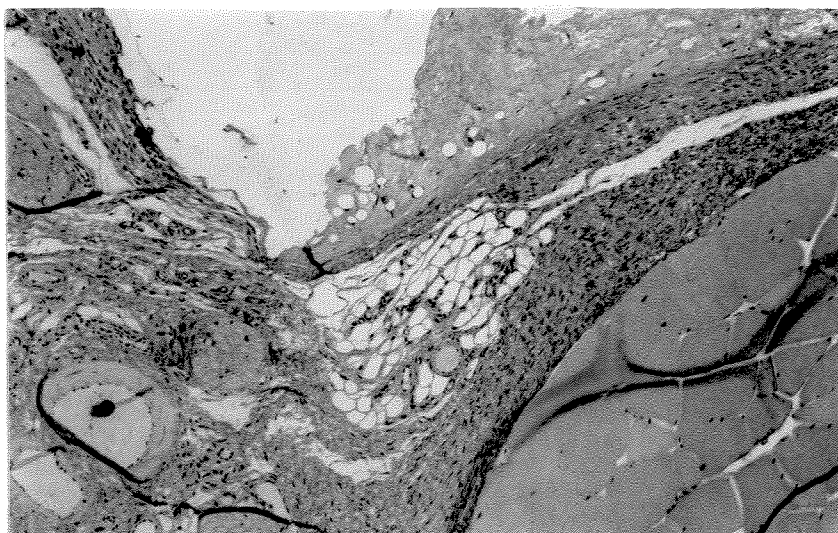


Fig.5- Pulp Canal Sealer, 30 dias (HE, 10x) - tecido bem organizado, com camada hialina na embocadura do tubo e presença de poucas células inflamatórias.

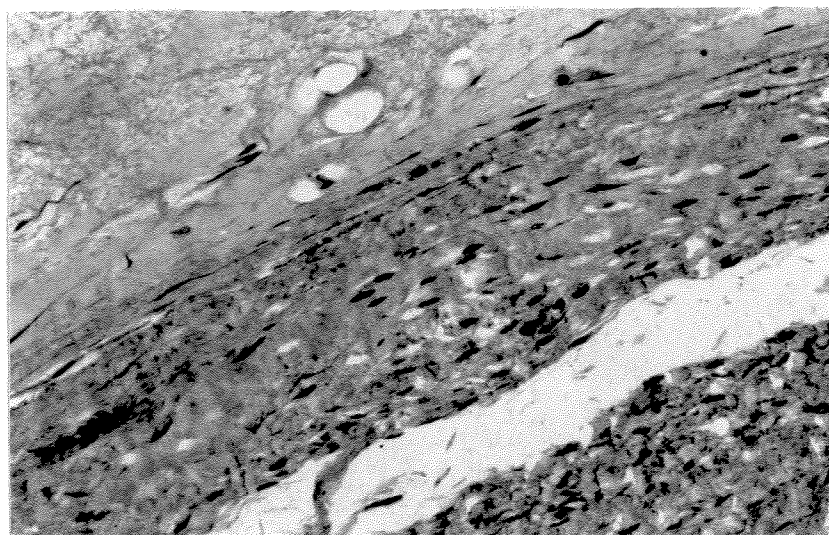


Fig.6- Pulp Canal Sealer, 30 dias (HE, 40x) - tecido fibroso com poucas células inflamatórias crônicas.

AH-Plus

Ao terceiro dia de implantação o cimento AH-Plus apresentou uma reação com área hialina compatível com rede de fibrina na embocadura dos tubos entre o tubo e uma grande área de tecido desorganizado com característica de degeneração. O infiltrado inflamatório foi predominantemente de polimorfos nucleares acompanhados de alguns macrófagos. Ocorreu uma proliferação de tecido de granulação à distância da embocadura. Não se observou formação de cápsula fibrosa, nem presença de células gigantes. Houve ausência de áreas de necrose, ausência de fragmentos de cimento no conjuntivo (Fig.7 e Fig.8).

Quando foi observado no período de 7 dias, o tecido implantado com o cimento AH-Plus mostrou-se mais organizado com formação de fibras conjuntivas. Além disso, identificou-se uma reação com predominância de células do infiltrado inflamatório crônico e sem áreas de necrose. O tecido de contato com o material apresentou-se hialinizado compatível com rede de fibrina. Foi observado, neste período, início de formação de cápsula fibrosa e o tecido apresentou proliferação de fibroblastos e vasos sangüíneos. Não foram observadas células gigantes e nem fragmentos de cimento espalhados pelo tecido conjuntivo (Fig.9 e Fig.10).

No trigésimo dia de implantação a cápsula fibrosa estava em estágio inicial de formação, o infiltrado inflamatório presente era predominado por células mononucleares, parecendo ser mais intenso que o período de 7 dias. Não houve presença de necrose. Houve presença de células gigantes e de fragmentos de cimento no conjuntivo (Fig.11 e Fig.12).



Fig.7- AH-Plus, 3 dias (HE, 10x) - presença de área hialina e degeneração do tecido.

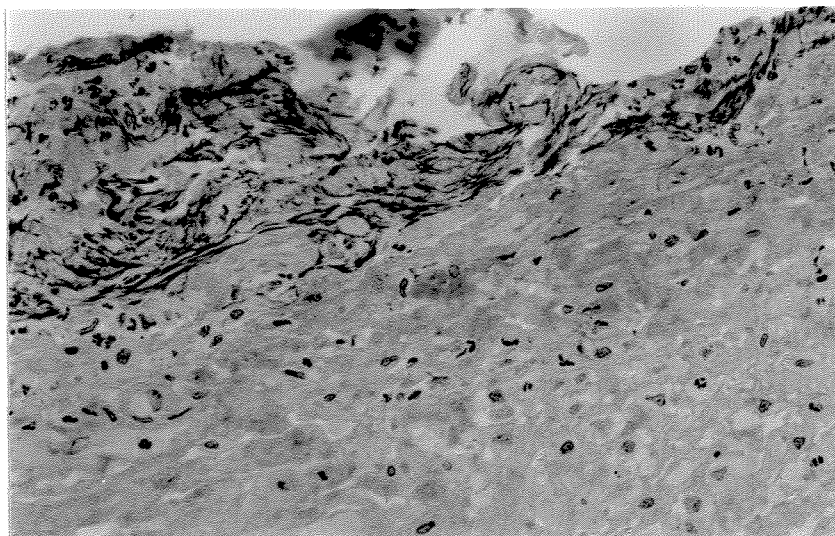


Fig.8- AH-Plus, 3 dias (HE, 40x) — presença de neutrófilos e células mononucleares, ausência de cápsula fibrosa, de células gigantes, de necrose tecidual e de fragmentos no tecido.

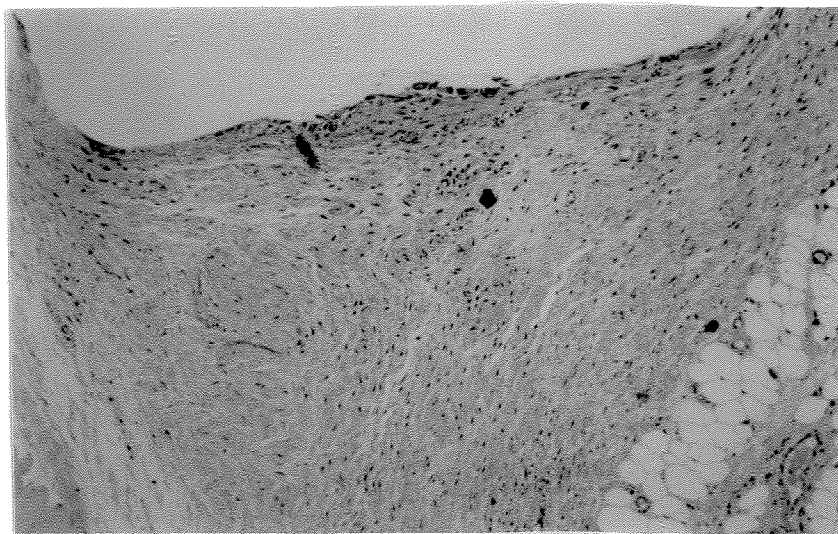


Fig.9- AH-Plus, 7 dias (HE, 10x) - maior organização tecidual e presença de camada de tecido hialinizado.

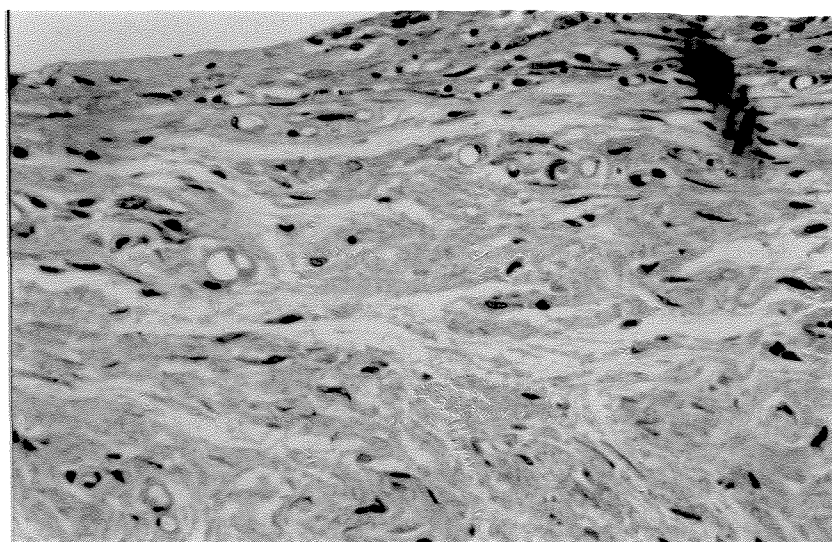


Fig.10- AH-Plus, 7 dias (HE, 40x) - início de formação de cápsula fibrosa, presença de células mononucleares, ausência de células gigantes e de fragmentos de cimento.

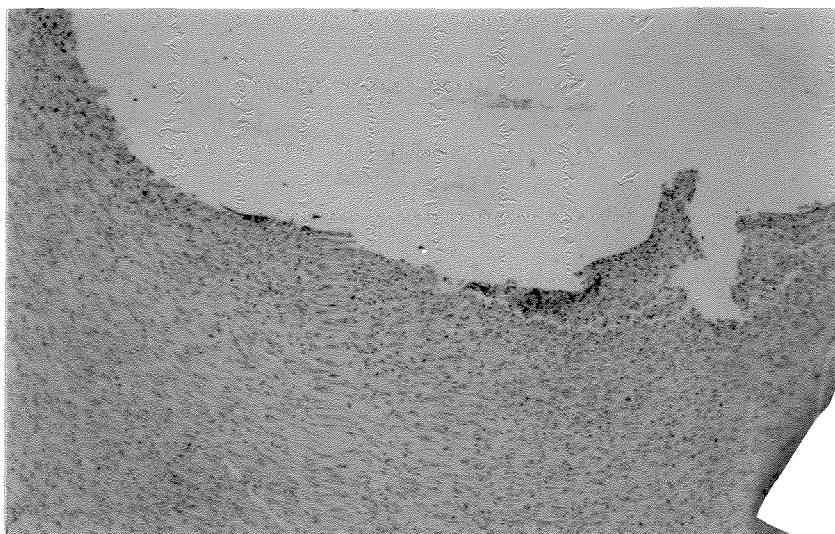


Fig.11- AH-Plus, 30 dias (HE, 10x) - grande área de tecido de granulação, moderada reação inflamatória.

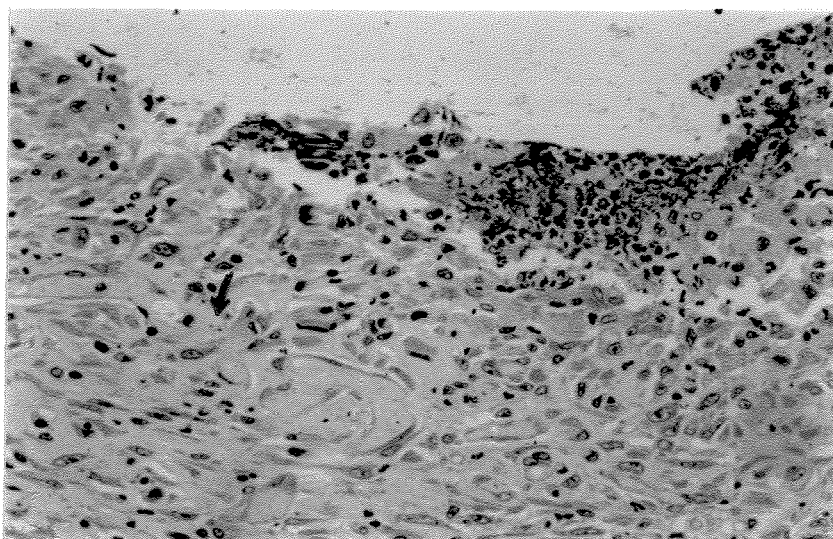


Fig.12- AH-Plus, 30 dias (HE, 40x) - presença de grande número de células mononucleares, início de formação de cápsula fibrosa, ausência de necrose e presença de fragmentos de tecido (seta).

Endométhasone

A reação obtida com a implantação de tubos preenchidos com cimento Endométhasone apresentou no terceiro dia uma área de degeneração hialina e tecido ainda não organizado com infiltrado de polimorfos nucleares no contato do tecido. Observou-se também que à distância, o tecido está começando a se proliferar. Neste período experimental e para este cimento, não foi observada formação de cápsula fibrosa, ausência de células gigantes, ausência de fragmentos de cimento no conjuntivo e ausência de áreas de microabscesso (Fig.13 e Fig.14).

No período experimental de 7 dias, na área de contato do tecido com o material, observou-se um tecido hialino compatível com uma rede de fibrina, e tecido de granulação permeado por macrófagos em grande quantidade. O tecido conjuntivo de uma forma geral estava mais organizado com poucas fibras colágenas. Não foi observado, neste período, formação de cápsula fibrosa. Foram identificadas áreas de calcificação distrófica entre o material hialino em alguns casos. Não foram identificadas áreas de necrose, nem a presença de fragmentos de cimento no conjuntivo (Fig.15 e Fig.16).

Ao trigésimo dia de implantação, observou-se a redução da área hialina e em alguns casos o seu desaparecimento. Ainda não se observou início de formação de cápsula fibrosa. O tecido permanece levemente inflamado com grande número de macrófagos, fibroblastos e fibras colágenas. Células gigantes com material fagocitado em seu interior, ausência de necrose, presença de

fragmentos de cimento no conjuntivo também foram identificados (Fig.17 e Fig.18).

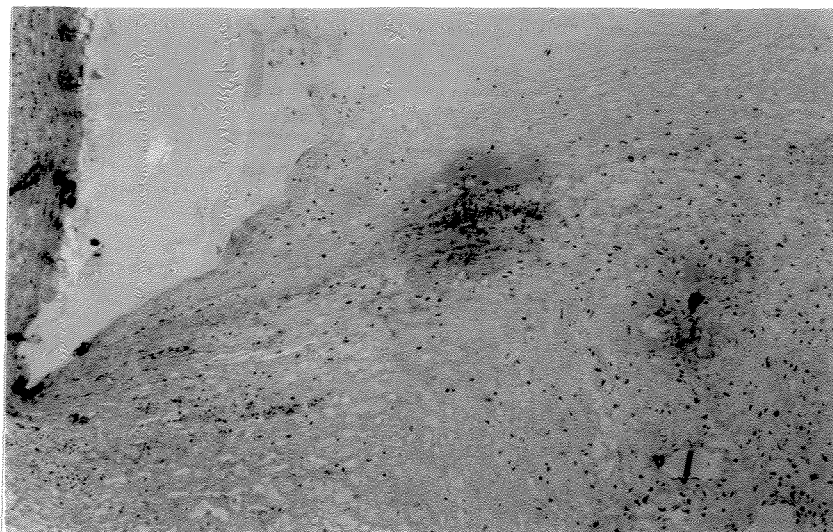


Fig.13- Endométhasone, 3 dias (HE, 10x) - camada hialina, tecido não organizado.

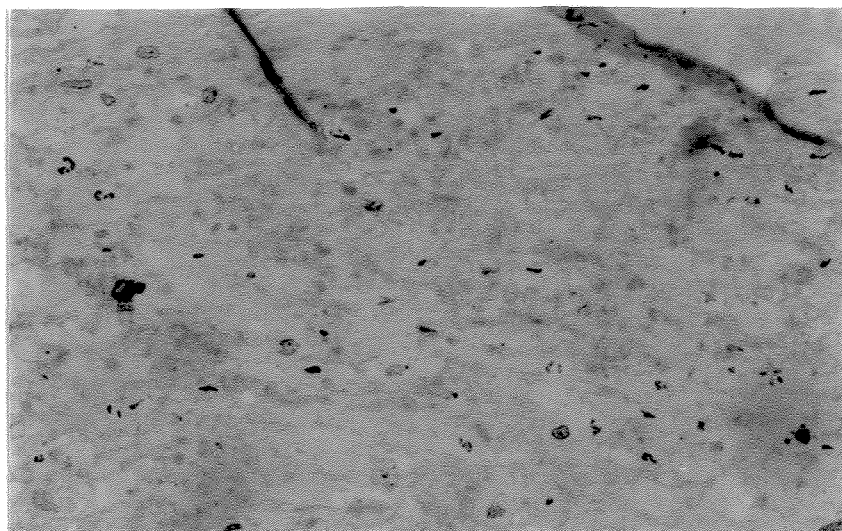


Fig.14- Endométhasone, 3 dias (HE, 40x) – presença de neutrófilos, ausência de cápsula fibrosa, ausência de células gigantes, ausência de fragmento de cimentos.



Fig.15- Endométhasone, 7 dias (HE, 10x) – tecido em estágio inicial de organização com área hialina em contato com material (seta).

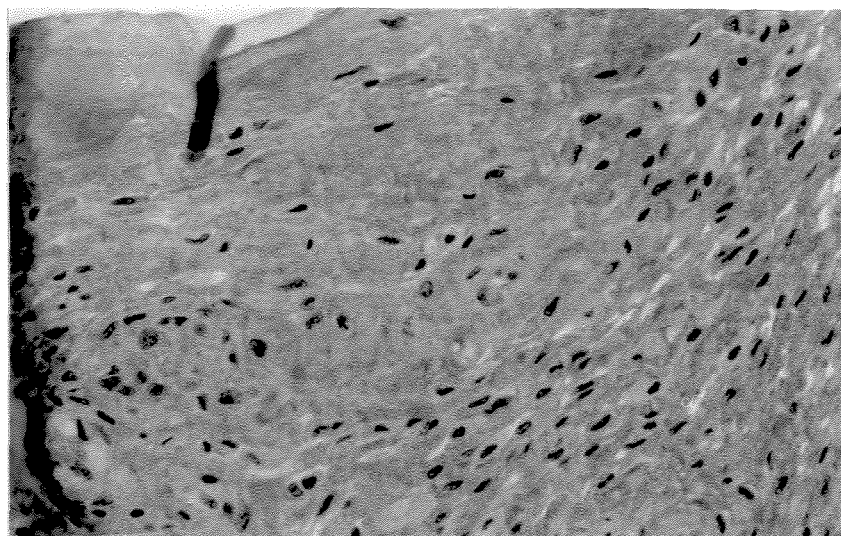


Fig.16- Endométhasone, 7 dias (HE, 40x) – presença de células mononucleares, ausência de cápsula.

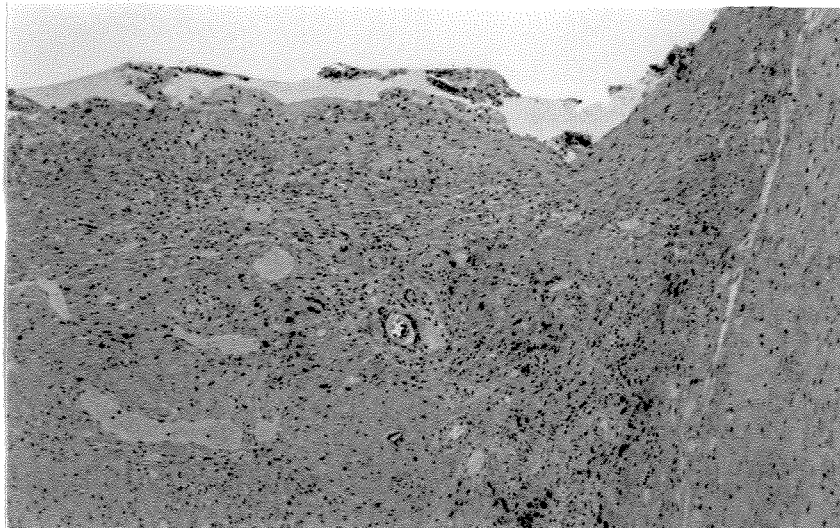


Fig.17- Endométhasone, 30 dias (HE, 10x) - área hialina estreita, tecido mais organizado.

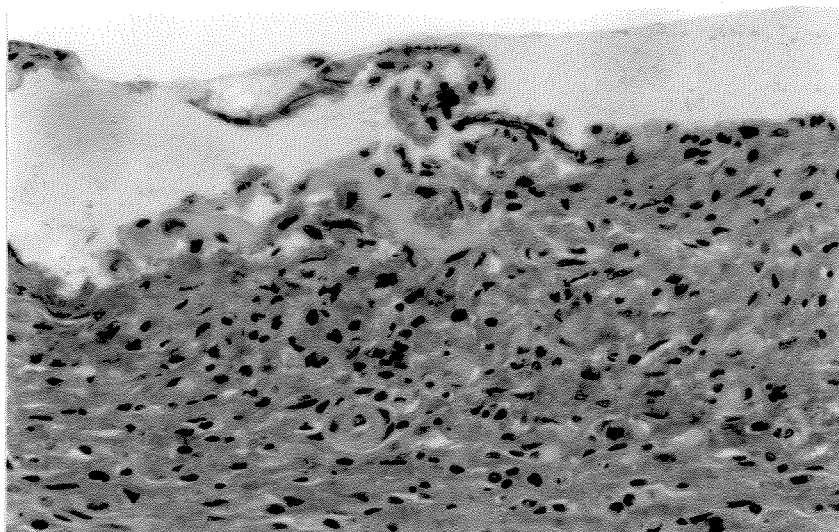


Fig.18- Endométhasone, 30 dias (HE, 40x) - células inflamatórias mononuclear, tecido em estágio de organização.

Controle

Os tubos não preenchidos por cimento, implantados como grupo controle, apresentaram, no terceiro dia, uma reação com discreto infiltrado inflamatório predominado por células mononucleares, mas com presença de polimorfos nucleares. O tecido não apresentava áreas de necrose, mas sim, área de degeneração na embocadura dos tubos. Não ocorreu, neste período, a formação de cápsula fibrosa e também não se observou presença de células inflamatórias (Fig.19 e Fig.20).

Com 7 dias de implantação, observou-se na embocadura do tubo uma camada de material hialino compatível com rede de fibrina entre o tubo e o tecido de granulação em organização, o qual mostrou grande número de fibroblastos e vasos sangüíneos. Observou-se um infiltrado inflamatório crônico sem áreas de necrose e sem formação de cápsula fibrosa na embocadura do tubo. Houve ausência de células gigantes (Fig.21e Fig.22).

Com 30 dias de implantação, os tubos implantados como controle apresentaram um tecido fibroso, separado do tubo por um tecido hialino. Observou-se no tecido células mononucleares, fibroblastos e ausência de áreas de necrose. Houve a formação de cápsula fibrosa, contudo ainda não totalmente organizada e ausência de células gigantes (Fig.23 e fig.24).

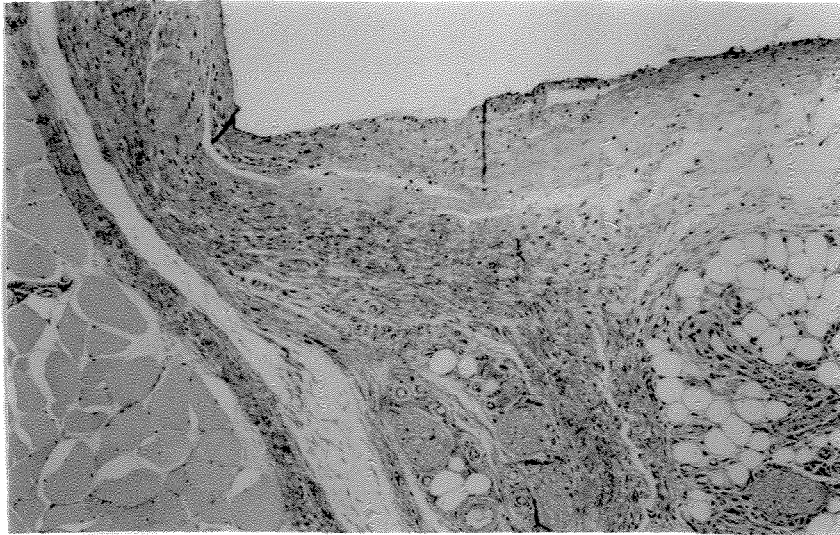


Fig.19- Controle, 3 dias (HE, 10x) - degeneração tecidual na embocadura do tubo com pequeno infiltrado inflamatório crônico.

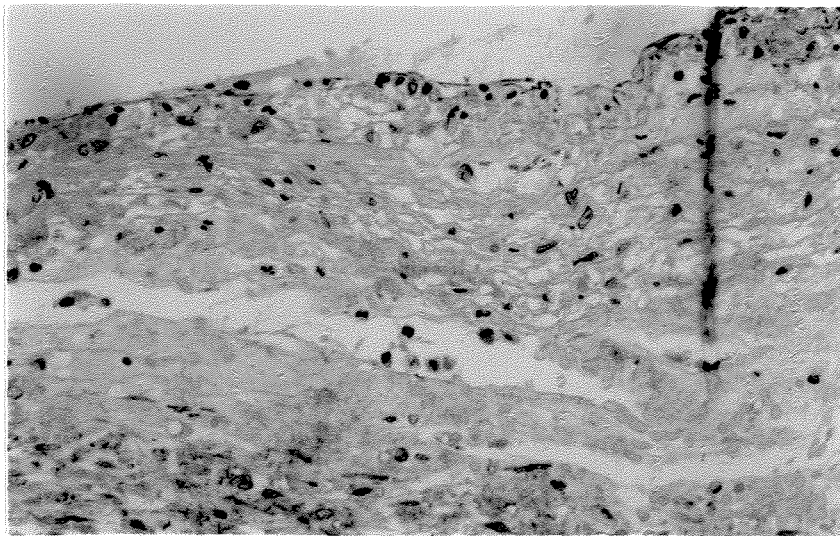


Fig.20- Controle, 3 dias (HE, 40x) - ausência de cápsula fibrosa e de células gigantes.

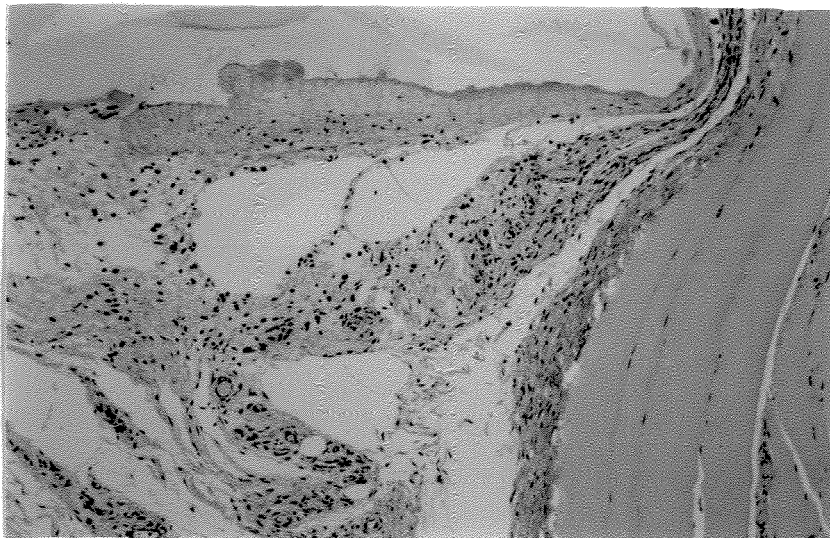


Fig.21- Controle, 7 dias (HE, 10x) - tecido hialino separando o tubo de um tecido em organização com fibroblastos, vasos sanguíneos.

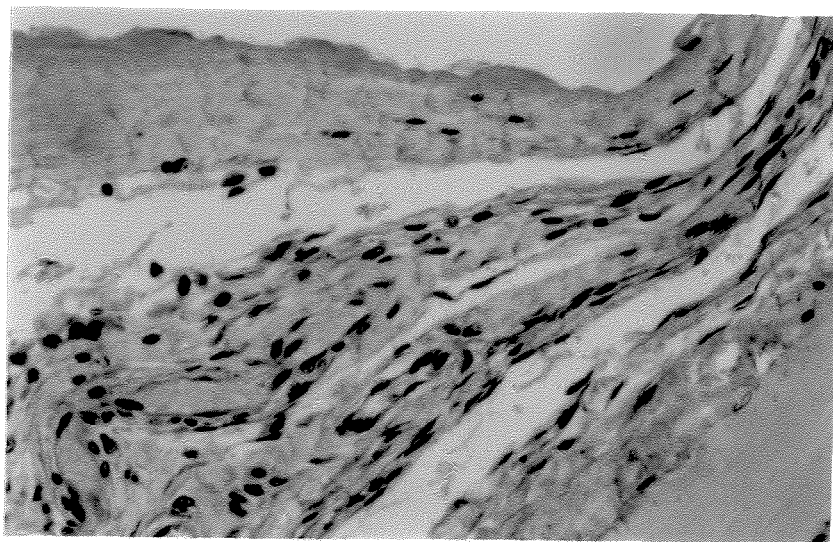


Fig.22- Controle, 7 dias (HE, 40x) - presença de macrófagos, ausência de necrose, de cápsula fibrosa e de células gigante.

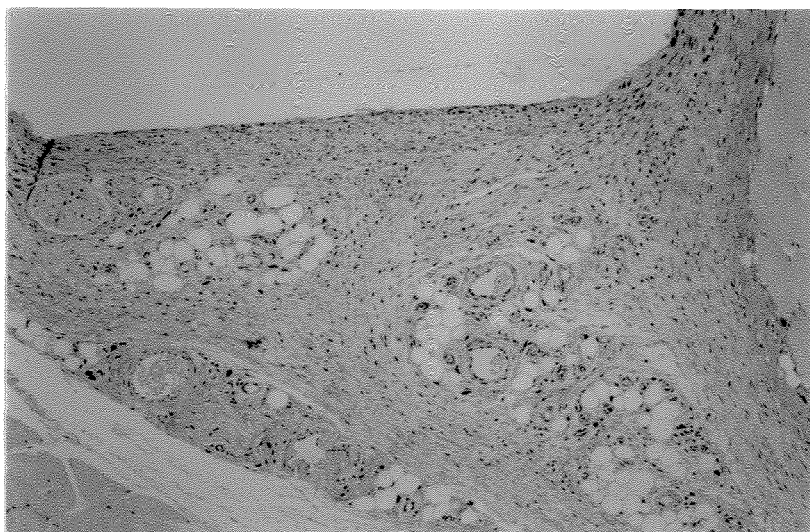


Fig.23- Controle, 30 dias (HE, 10x) - tecido hialino separando o tubo de um tecido fibroso e organizado.

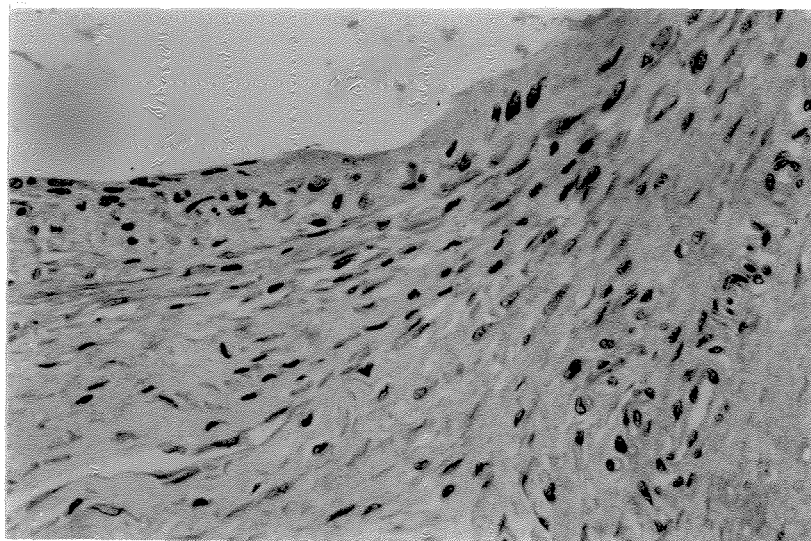


Fig.24- Controle, 30 dias (HE, 40x) - presença de macrófagos, fibroblastos, e cápsula fibrosa.

DISCUSSÃO

O método de implante subcutâneo em ratos utilizado neste estudo possui várias qualidades desejáveis de um teste de segundo nível para avaliação de cimentos endodônticos. Devido à forma descomplicada de execução é utilizado de rotina para a finalidade de estudo da biocompatibilidade de cimentos endodônticos(10; 11; 13; 23; 24; 25; 32; 33; 35; 36; 37; 39; 40; 41; 44; 58; 59).

O material a ser testado pode ser levado a intimidade dos tecidos por meio de uma seringa e lá depositado em quantidade preestabelecida e padronizada (32; 25). Pode também ser implantado em tubos de dentina (23) tubos de polietileno (10; 3), tubos de teflon (28; 48; 13) e em forma de pastilhas do material após a presa (4).

A utilização de um tubo limita a área de avaliação, o que não acontece com a injeção do material recém manipulado e com o método da implantação das pastilhas de material após a presa. Os tubos de polietileno foram utilizados devido terem uma resposta similar aos tubos de teflon e a cápsula ao redor do tubo servir como controle negativo (28).

Um dos problemas deste método é que o material pode escapar do tubo para o tecido adjacente e produzir diferentes graus de resposta para o mesmo período experimental. Este problema pode ser bem controlado com o selamento de uma das extremidades como foi realizado neste estudo (13). O problema de espalhamento do material para o tecido pode também ser prevenido se os tubos forem implantados após a presa do material, mas desta forma, elimina-se a

avaliação da fase de alta toxicidade da maioria dos cimentos (39). Um outro fator que auxilia na contenção do material no interior dos tubos é o diâmetro, portanto, quanto menor o diâmetro menor a chance do material espalhar-se pelo tecido. Contudo, um diâmetro muito pequeno irá proporcionar uma área pequena para avaliação histológica. Desta forma, escolhemos um diâmetro interno de 1,5mm, que proporciona uma boa segurança na retenção do material e uma boa área para avaliação histológica.

Para minimizar o trauma cirúrgico tem sido proposta a utilização de seringas especiais ou trocars (48). Neste estudo, fez-se uma pequena incisão, seguida pela divulsão com instrumento rombo e deposição do implante com auxílio de um trocar.

A movimentação dos tubos no interior do tecido é outro ponto desfavorável deste método, pois pode-se ter resposta inflamatória devido a esta movimentação. Contudo, quando se percebe uma cápsula fibrosa envolvendo as paredes laterais do tubo, pode-se deduzir que a houve limitação da movimentação (39).

Outro fator a ser considerado quanto ao método utilizado é a dificuldade de seccionamento das peças devido ao endurecimento do cimento após a presa resultando no desprezamento de várias espécimes do estudo. Para resolver esta dificuldade, pode-se remover os tubos da intimidade dos tecidos antes destes serem processados histologicamente. Contudo, com este procedimento a mais importante área que é a interface entre o material e o tecido é perdida (39). Assim sendo, os blocos devem ser cortados com os tubos *in situ*, como foi realizado neste experimento, ressaltando que a perda de várias espécies não foi

completamente eliminada, mesmo utilizando-se de uma resina para inclusão dos blocos, a qual possui uma resistência ao corte superior à da parafina.

Uma outra variável é a não coincidência das secções com o longo eixo dos tubos, pois desta forma, a resposta tecidual se deslocaria da porção mais desejável (39). Para se tentar minimizar esta variável, os blocos foram seccionados ao meio transversalmente e posteriormente no sentido longitudinal, desta forma, as peças foram reduzidas e a área de interesse estava em contato direto com as soluções do processamento histológico e com o fio da navalha, sem necessidade de aprofundamento dos cortes em demasia.

Quando se tem reduzidas ou controladas as variáveis tem-se a possibilidade de obter dados mais confiáveis, embora vários autores afirmem que um “ranking” dos materiais é difícil de se obter, principalmente quando se avalia materiais com respostas não muito discrepantes (22; 27; 43; 39; 48). Da mesma forma, não se pode fazer uma correlação entre os modelos de estudo em seus níveis de aplicação, ou seja, os resultados obtidos com culturas de células diferem daqueles obtidos em experimentos de implantação (27). Desta forma, é necessário limitar os resultados ao modelo de estudo, à amostra empregada e às condições de execução deste trabalho.

Pela análise histológica pode-se observar que todos os cimentos tiveram um padrão de reação semelhante, ou seja uma resposta mais severa no início regredindo com o tempo.

Com 3 dias, observou-se para todos os cimentos a presença de um tecido degenerado que pode ser entendido como exsudato ocasionado pelo trauma

cirúrgico. Neste período, o infiltrado inflamatório era um misto de células mononucleares e neutrófilos, o tecido ainda está bastante desorganizado e ainda não há formação de cápsula fibrosa na interface material tecido conjuntivo o que está de acordo com os achados de outros pesquisadores (33, 39 e 52). Neste tempo experimental, a reação observada é muito mais devida ao trauma cirúrgico que ao material implantado, ficando difícil relacionar os cimentos em ordem crescente de biocompatibilidade.

Com 7 dias o tecido já está mais organizado para todos os materiais, não se visualizou o exsudato produzido pelo trauma cirúrgico, contudo não se pode dizer que a resposta observada seja somente em função do material implantado, pois segundo Costa, em 1997, a resposta inflamatória no período de 7 dias ainda pode estar exacerbada pelo procedimento cirúrgico de implantação. Este fato pode explicar a presença de uma camada hialino presente na embocadura do tubo entre este e o tecido conjuntivo. Neste período de observação, as células são praticamente mononucleares, observou-se início formação de cápsula fibrosa somente com a implantação do cimento AH-Plus e Pulp Canal Sealer. A formação de cápsula nesta fase não é unanimidade na literatura (32; 13; 23), mas considerou-se como cápsula somente o início de uma organização das células neste sentido. É necessário salientar que as comparações entre os diferentes resultados não podem se feitas diretamente pois a metodologia não é exatamente a mesma e os cimentos também não, deve-se observar o padrão genérico de comportamento dos cimentos.

Com trinta dias de observação os cimentos mostraram diminuição da resposta inflamatória em relação ao primeiro período, contudo permaneceu um grau de inflamação diferente para cada tipo de cimento.

Neste período de 30 dias de implantação observou-se infiltração com células mononucleares e com formação de cápsula fibrosa para todos os cimentos, sendo que para o Pulp Canal Sealer, a organização tecidual estava mais próxima do controle e o AH-Plus o mais distante. Embora alguns autores afirmem que a cápsula fibrosa não seja sinal de tolerância tecidual devido à presença de irritação além da mesma (39), há quem diga que a cápsula fibrosa seja compatível pelo fato de estar presente ao longo das paredes do tubo que é tolerável pelo tecido (40). Desta forma, definiu-se cápsula fibrosa como sinal de tolerância tecidual e fator positivo para a análise dos cimentos endodônticos.

Observou-se, também, neste período, para todos os cimentos examinados a presença de células gigantes com material fagocitado em seu interior comprovando a dissolução destes materiais para o tecido ou a falta de retenção do material no interior dos tubos o que está de acordo com outros pesquisadores (57)

Neste período mais longo de observação, percebe-se que os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol tiveram uma resposta mais branda mas que ainda não se resolveu, o que está de acordo com outros achados (40; 10).

O cimento Endométhasone apresentou uma reação ainda persistente, talvez devido ao eugenol residual após a formação de eugenolato de zinco. Sabe-se que os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol tem 5% de eugenol

residual após a presa do cimento (34). Contudo, como o cimento Endométhasone possui outros componentes além do óxido de zinco e eugenol, não se sabe exatamente a concentração de eugenol residual neste composto. Embora possuindo corticosteróide, componente que reduz a resposta inflamatória mesmo em períodos mais longos de observação (40), o Endométhasone apresentou uma reação tecidual mais acentuada que o cimento Pulp Canal Sealer, que é composto da mesma base, ou seja óxido de zinco e eugenol, além do que este último não possui em sua composição substâncias que modulem a reação inflamatória

O cimento AH-Plus tem resina em sua composição, contudo a literatura não revela trabalhos de biocompatibilidade utilizando este cimento, somente trabalho com citotoxicidade e genotoxicidade, indicando que foi citocompatível e não provocou efeito genotóxico (31). Este cimento apresentou, neste trabalho, uma toxicidade muito semelhante ao Endométhasone nos períodos experimentais devido talvez a complexidade da composição da fórmula dos cimentos. Apresentou também um poder de irritação maior nos primeiros dias de implantação e diminui com o tempo, isto ocorreu, talvez pelo maior tempo de presa que este cimento possui (20, 40).

O cimento AH-Plus teve uma reação mais acentuada que o Pulp Canal Sealer. Esta reação pode ser devido à liberação de algum componente da fórmula do cimento AH-Plus, assim como ocorre com o cimento AH 26, o qual libera formaldeído como produto da quebra da hexametilene tetramine (13).

O cimento Pulp Canal Sealer foi aquele que mais se aproximou do grupo controle, principalmente no período de 30 dias. Neste período de observação, este cimento propiciou uma organização tecidual com cápsula fibrosa separando o material de um tecido fibroso e maduro. Embora, o tecido não estivesse totalmente organizado neste período, este cimento foi avaliado como o mais biocompatível no período mais longo de exame que foi 30 dias

Este é um método com muitas variáveis, pois a densidade celular varia de secção para secção e em diferentes partes da mesma secção (48). Há problemas em se avaliar os resultados mesmo em secções de boa qualidade como aquelas obtidas com a utilização do método de inclusão em resina (18).

CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos com a metodologia empregada foi possível concluir que:

- 1- O padrão de irritação produzido pelos cimentos foi muito semelhante, com uma irritação mais severa no início que reduziu com o tempo;
- 2- Todos os cimentos apresentaram no período de 30 dias a formação de cápsula fibrosa o que é compatível com a tolerância tecidual;
- 3- O cimento Pulp Canal Sealer apresentou no período de trinta dias um grau de maturação tecidual mais avançado que os demais tecidos;
- 4- Os cimentos AH-Plus e Endométhasone apresentaram no período de trinta dias uma inflamação leve
- 5- O cimento Pulp Canal Sealer induziu, no período de trinta dias, reação tissular mais leve que os demais cimentos

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the *in vivo* biocompatibility of Endométhasone, Pulp Canal Sealer e AH-Plus root canal sealers, after implantation in rat connective tissue. Twenty-four Wistar-Furth rats were used. Each sealer was placed in polyethylene tubes and implanted into specific dorsal subdermal tissues sites. Implants were removed after 3, 7 and 30 days, fixed and processed by glycol methacrylate method to be microscopically examined.

On the third day, it was possible to observe a severe reaction with acute inflammatory cells with all sealers, but a milder reaction was identified with Pulp Canal Sealer. The organization of the tissue was clearer, specially with AH-Plus, with reduction of the severity of the reaction on the 7th day. The connective tissue with a few inflammatory cells was present with all sealers on the 30th day. In this longer time, with Pulp Canal Sealer was the sealer, the tissue was more organized, while Endométhasoe and AH-Plus did not differ each other and they showed a milder persistent reaction.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1. ABOUSH, Y.E.Y.; JENKINS, C.B.G. An evaluation of the bonding of glass ionomer restoratives to dentin and enamel. **Br. Dent. J.** v.6, p.179-84, Sept., 1986.
2. ANTÔNIO, M.P.S.; MOURA, A.A.M. Análise *in vitro* do selamento marginal apical de obturações realizadas com cones de guta-percha associados a quatro tipos de cimentos. **Rev.Odonto. Univ. São Paulo.** v.11, n.1, p.61-6, Jan-Mar., 1997.
3. BENNETT, H.S. et al. Science and art in preparing tissue embedding in plastic for light microscopy, with special reference to glycol methacrylate, glass knives and simple stain. **Stain Tech.** V.51, n.2, p.71-97, March, 1976
4. BLACKMAN, R.; GROSS, M.; SELTZER, S. An evaluation of biocompatibility of a glass ionomer-silver cement in rat connective tissue. **J. Endod.** v.15, n.2, p.76-9, Feb., 1989.
5. BRATEL, L. et al. Effect of the root canal sealers on the immunocompetent cells *in vitro* and *in vivo*. **Int. Endod. J.** v.31, p.178-88, 1998.
6. BROWNE, R.M.; FRIEND, L.A. An investigation into the irritant properties of some root filings materials. **Arch. Oral Biol.** v.13, p. 1355-69, 1968.

7. BROWNE, R.M. Animal tests for biocompatibility of dental materials - relevance, advantages and limitations. **J. Dent. Suppl.** 2. n.22, p.21-4, 1994.
8. CALLIS, P.D.; SANTINI, A. Tissue response to retrograde root filings in the ferret canine: A comparison of a glass ionomer cement and gutta-percha with sealer. **O. Surg O. Med O.Pathol** v. 64, n.4, p.475-9, Oct., 1987.
9. COLE, M.B.; SYKES, S.M. Glycol methacrylate in light microscopy: a routine method for embedding and sectioning animal tissues. **Stain Tech.** V.49, n.6, p.387-400, 1974.
10. COSTA, C.A.S. et al. Estudo preliminar da compatibilidade biológica das resinas compostas prisma TPH e Herculite XR. Avaliação histológica de implantes subcutâneo em ratos. **Rev. Paulista Odontol.** n.3, p.10-4, Maio-Jun., 1997.
11. CRANE, D.L. et al. Biological and physical properties of an experimental root canal sealer without eugenol. **J. Endod.** v.6, n.2, p.438-45, Feb., 1980.
12. DE SOUZA, V. et al. Reação do tecido conjuntivo de ratosao imlante de hidróxido de cálcio. **Rev. Fac. Odon. Araçtuba** v.6, n.1e2, p.69-76, 1977.
13. ECONOMIADES, N. et al. Experimental study of the biocompatibility of four root canal sealers and their influence on the zinc and calcium content of several tissues. **J. Endod.** v.21, n.3, p.122-7, March, 1995.
14. FEDER, N.; O'BRIEN, T.P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **Amer. J. Bot.** V.55, n.1, p.123-42, Jan., 1968.

15. GEROSA, R. et al. Cytotoxicity evaluation of six root canal sealers. **J. Endod.** V.21, n.9, p.446-8, Sept., 1995
16. GOMES, B.P.F.A. An investigation into the root canal microflora. **Tese de doutorado.** University of Manchester, UK, 1995.
17. GOMES, B.P.F.A.; LILLEY, J.D.; DRUCKER, D.B. Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to the biomechanical procedures. **Int. Endod. J.** v.29, p.235-41, 1996.
18. GOMES FILHO, J.E. estudo do método de utilização do glicol metacrilato como material de inclusão de implantes subcutâneos em ratos. Tese Mestrado. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. 1999
19. GROSSMAN, L.I.; EDWARD, T.L. Assessment of irritation potential of essential oils for root canal cement. **J. Endod.** v.8, n.5, p.208-12, May, 1982.
20. GROSSMAN, L.I. Physical properties of root canal cements. **J. Endod.** V.2, n.6, p.166-75, June, 1976.
21. GUTUSO, J. Histopatologic study of rat connective tissue response to endodontic material. **O. Surg O. Med O.Pathol** v. 16, n.6, p.713-27, June, 1963.
22. KETTERING, J.D.; TORABINEJAD, M. Citotoxicity of root canal sealers: a study using HeLa cells and fibroblasts. **Int. Endod. J.** v.17, p.60-6, 1984.
23. KOLOKOURIS, I. et al. Experimental study of the biocompatibility of a new glass ionomer root canal sealer (Ketac-Endo). **J. Endod.** v.22, n.8, p.395-8, Aug, 1996.

24. KOLOKOURIS, I. et al. Influence of zinc oxide and eugenol sealer on concentration of zinc, calcium and copper in rat tissues. **Endod. Dent. Traumatol.** V.14, p.210-3, 1998.
25. KOLOKOURIS, I. et al. *In vivo* comparison of the biocompatibility of two root canal sealers implanted into the subcutaneous connective tissue of rats. **J. Endod.** V.24, n.2, Feb., 1998
26. KOZAN, G.; MANTELL, G.M. The effect of eugenol on oral mucous membrane. **J. Dent. Res.** v.57, n.11-12, p.954-7, Dec., 1978.
27. LANGELAND, K. Correlation of screening tests and usage tests. **J. Endod.** v.4, n.10, p.300-2, Oct., 1978
28. LANGELAND, K.; OLSSON, B.; PASCON, A. Biological evaluation of Hydron **J. Endod.** v.7, n.5, p.196-204, May, 1981
29. LEONARDO, M.R. et al. Histological evaluation of the response of apical tissues to glass ionomer and zinc oxide-eugenol based sealers in dog teeth after root canal treatment. **Endod. Dent. Traumatol.** V.14, p.257-61, 1998.
30. LEONARDO, M.R. et al. Calcium hydroxide root canal sealers- histopathologic evaluation of apical and periapical repair after endodontic treatment. **J. Endod.** V.23, n.7, p.428-32, July, 1997
31. LEYHAUSEN, G. et al. Genotoxicity and citotoxicity of epoxy resin-based root canal sealer AH Plus. **J. Endod.** V.25, n.2, p.109-13, Feb., 1999.
32. MITTAL, M.; CHANDRA, S.; CHANDRA, S. Comparative tissue evaluation of four endodontic sealer. **J. Endod.** v.21, n.12, p.622-4, Dec., 1995.

33. MOLLOY, D. et al. Comparative tissue tolerance of a new endodontic sealer. **O. Surg O. Med O.Pathol** v.73, n.4, p.490-3, April, 1992.
34. MOLNAR, E.J. Residual eugenol from zinc oxide-eugenol compounds **J. Dent. Res.** v.46, n.4, p.645-9, July-Aug., 1967.
35. MORSE, D.R. et al. A comparative tissue toxicity evaluation of gutta-percha root canal sealers. Part II. Forty-eighth hour findings. **J. Endod.** v. 10, n.6, p.484-6, Oct., 1984.
36. MORSE, D.R. et al. A comparative tissue toxicity evaluation of gutta-percha root canal sealers. Part I. six-hour findings. **J. Endod.** v. 10, n.6, p.246-9, Oct., 1984.
37. MORSE, D.R. et al. A comparative tissue toxicity evaluation of the liquid components of gutta-percha root canal sealers. **J. Endod.** v.7, n.12, p.545-50, Dec., 1981.
38. MOOSAVI, H.; et al. Plastic-embedded human marrow biopsy specimens. **Arch. Pathol. Lab. Med.** v.105, p.269-273, May, 1981
39. OLSSON, B.; SLIWKOWSKI, A.; LANGELAND, K. subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials **J. Endod.** v.7, n.8, p.355-69, Aug. 1981.
40. ORSTAVIK, D.; MIJÖR, I.A. Histopatology and x-ray microanalysis of the subcutaneous tissue response to endodontic sealers **J. Endod.** v.14, n.1, p.13-23, Jan., 1988.

41. ORSTAVIK, D.; MIJÖR, I. Usage test of four endodontic sealers in *Macaca fascicularis* monkeys. **O. Surg. O. Med. O. Pathol.** V.73, n.3, p.337-44, March, 1992.
42. OSÓRIO, R.M. et al. Cytotoxicity of endodontic materials. **J. Endod.** V.24, n.2, p.91-6, Feb., 1998.
43. PASCON, E.A. et al. Tissue reaction to endodontic materials: methods, criteria, assessment and observations. **O. Surg O. Med O.Pathol** v.72, n.2, p.222-37, Aug., 1991.
44. PHILLIPS, J.M. Rat connective tissue response to hollow polyethylene tube implants. **J. Canad. Dent. Ass.** v.33, n.2, p.59-64, 1967.
45. PITT FORD, T.R. Relation between seal of root fillings and tissue response. **O. Surg O. Med O.Pathol** v.55, n.3, p.241-4, March, 1983.
46. PITT FORD, T.R. The leakage of root filling materials using glass ionomer cement and other materials. **Br. Dent. J.** v.1, p.273-8, May, 1979.
47. ROWE, A.H.R. Effect of root filing materials on the periapical tissues. **Br. Dent. J.** v.7, p.98-102, Feb., 1967.
48. SAFAVI, K.E.; PASCON, E.A.; LANGELAND, K. Evaluation of tissue reaction to endodontic materials. **J. Endod.** v.9, n.10, p.421-9, Oct., 1983.
49. SAFAVI, K.E. et al. An *in vitro* method for longitudinal evaluation of toxicity of endodontic sealers. **J. Endod.** v.15, n.10, p.484-6, Oct., 1989.
50. SCWEIKL, H. et al. Mutagenicity of AH26 in an *in vitro* mammalian cell mutation assay. **J. Endod.** V.21, n.8, Aug, 1995

51. SERPER, A. et al. Comparative Neurotoxicity effects of root canal filling materials on rat sciatic nerve. **J. Endod.** V.24, n.9, p.592-4, Sept. 1998.
52. SPANGBERG,L.; LANGELAND, K. Biological effects of dental materials. **O. Surg O. Med O.Pathol** v.35, n.3, p.402-14, Mar, 1973.
53. STEWART, G.G. A comparative study of three root canal sealing agents. **O. Surg O. Med O.Pathol** v.11, n.9, p.1029-41, Sept., 1958.
54. SWARTZ, M.L.; PHILLIPS, R.W.;CALRK, H.E. Long-term released from glass ionomer cements. **J. Dent. Res.** v.63, n.2, p.158-60, Feb., 1984.
55. TAGGER, M.; TAGGER, E.; KFIR, A. Release of calcium and hydroxyl ions from set endodontic sealers containing calcium hydroxide. **J. Endod.** v.14, n.12, p.588-9, Dec., 1988.
56. TANZILLI, J.P.; NEUINS, A.J.; BORDEN, B.G. The reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants filled with Hydron or gutta-percha. **O. Surg O. Med O.Pathol** v.55, n.5, p.507-13, May, 1983.
57. TEPEL, J.; SAWAF, M., HOPPE, W. Reaction of inflamed periapical tissue to intracanal medicaments and root canal sealers. **Endod. Dent. Traumatol.** V.10, p.233-8, 1994.
58. TORNECK, C.D. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. **O. Surg O. Med O.Pathol** v.21, n.3, p.379-87, Mar., 1966.
59. TORNECK, C.D. Reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. **O. Surg O. Med O.Pathol** v.24, n.5, p.674-83, Nov., 1967.

60. VAJRABHAYA, L. et al. Comparison between sulphorhodamine-B dye staining and Cr-release method in cytotoxicity assay of endodontic sealers. **J. Endod.** v.23, n.6, p.355-7, June, 1997.
61. VAJRABHAYA, L.; SITHISARAN, P. Multilayer an monolayer cell cultures in a cytotoxicity assay of root canal sealers. **Int. Endod. J.** v.30, p.141-4, 1997.
62. YOSHIKAWA, M. et al. Histopatological study of a newly developed root canal sealer containing tetracalcium-dicalcium phosphates and 1.0% Chondroitin Sulfate. **J. Endod.** V.23, n.3, March, 1997.