

RODRIGO PAGLIARI OLIVEIRA

**Avaliação histológica da resposta inflamatória
a cimentos de obturação endodôntica**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
UBERLÂNDIA, MG
2006**

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da UFU / Setor de
Catalogação e Classificação

O48a Oliveira, Rodrigo Pagliari, 1975-
 Avaliação histológica da resposta inflamatória a cimentos de obtura-
 ção endodôntica / Rodrigo Pagliari Oliveira. - 2006.
 80 f. : il.
 Orientador: Cássio José Alves de Sousa.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pro-
 grama de Pós-Graduação em Odontologia.
 Inclui bibliografia.
 1. Materiais dentários - Teses. 2. Materiais dentários - Biocompatibi-
 lidade - Teses. I. Sousa, Cássio José Alves de. II. Universidade Federal
 de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. III. Título.

CDU: 615.46

RODRIGO PAGLIARI OLIVEIRA

**Avaliação histológica da resposta inflamatória
a cimentos de obturação endodôntica**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia da Universidade Federal de
Uberlândia para concorrer ao título de Mestre,
pelo Curso de Pós-Graduação em
Odontologia. Área de concentração em
Reabilitação Oral

Orientador: Prof. Dr. Cássio José Alves de Sousa

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
UBERLÂNDIA, MG
2006**

A dissertação “AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA A CIMENTOS DE OBTURAÇÃO ENDODÔNTICA”, elaborada por RODRIGO PAGLIARI OLIVEIRA, foi defendida e aprovada por todos os membros da banca examinadora, sendo aceita pela Faculdade de Odontologia, Curso de Pós-graduação em Odontologia, área de concentração em Reabilitação Oral como requisito parcial à obtenção do título de:

MESTRE EM ODONTOLOGIA

Uberlândia, 30/08/2006

BANCA EXAMINADORA

Profº Drº Cássio José Alves de Sousa

Profº Drº Antônio Francisco Durighetto Jr.

Profº Drº Eliseu Álvaro Pascon

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a DEUS, que pelo DOM DA VIDA me confirma em seus propósitos. Este trabalho é um deles.

Agradeço em especial e com muito amor a minha família: papai Osvaldo, mamãe Neide e Daniela, pela paciência, AMOR e dedicação à minha vida. AMO MUITO VOCÊS.

Muito Obrigado ao AMIGO, MESTRE e COMPANHEIRO de minha carreira profissional e de minha vida CÁSSIO JOSÉ ALVES DE SOUSA, que no ato de me orientar teve comigo PACIÊNCIA E CUIDADO afim de que me tornasse alguém melhor. Aqui EXTERNO, carinhosamente, MINHA SINCERA GRATIDÃO.

Deixo também uma imensa e eterna gratidão ao amigo e formador de horas fáceis e difíceis, UM GRANDE MESTRE: FREI FLÁVIO.

A todos os que de uma forma ou de outra estiveram comigo na minha caminhada em orações, presença ou Incentivos. Muito Obrigado!

***“SENHOR, fazei-me um instrumento de vossa paz”.
 Onde houver ódio que eu leve o AMOR
 Onde houver ofensa que eu leve o PERDÃO
 Onde houver discórdia que eu leve a UNIÃO
 Onde houver dúvida que eu leve a FÉ
 Onde houver erro que eu leve a VERDADE
 Onde houver desespero que eu leve a ESPERANÇA
 Onde houver tristeza que eu leve a Alegria
 Onde houver trevas que eu leve a LUZ
 Ó MESTRE, fazei que eu procure mais:
 Consolar que ser consolado, Compreender que ser compreendido,
 Amar que ser amado, pois é dando que se recebe, é perdoando que
 se é perdoado, e é morrendo que se vive para a vida eterna ;
 AMÉM”.***

São Francisco de Assis

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	VII
LISTA DE TABELAS.....	VIII
RESUMO.....	IX
ABSTRACT.....	X
INTRODUÇÃO.....	1
REVISTA DE LITERATURA.....	5
PROPOSIÇÃO.....	28
MATERIAIS E MÉTODO.....	30
RESULTADOS.....	42
DISCUSSÃO.....	57
CONCLUSÃO.....	70
REFERÊNCIAS.....	72

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Material AHPLUS (Dentsply)	31
2.	Material Epiphany (Pentron Clinical Technologies, Wallingford)	31
3.	Material MTA (Dentsply)	32
4.	Metodologia do implante intra-ósseo	35
5.	Quadro histológico AHplus 30 dias	51
6.	Quadro histológico AHplus 90 dias	52
7.	Quadro histológico Epiphany 30 dias	53
8.	Quadro histológico Epiphany 90 dias	54
9.	Quadro histológico MTA 30 dias	55
10.	Quadro histológico MTA 90 dias	56

LISTA DE TABELAS

TABELA		Página
1.	Composição dos materiais estudados	33
2.	Relação dos implantes intra-ósseos e qualidade das respostas inflamatórias	44
3.	Avaliação histológica do implante AHplus aos 30 e 90 dias	45
4	Avaliação histológica do implante Epiphany aos 30 e 90 dias	45
5	Avaliação histológica do implante MTA aos 30 e 90 dias	46

RESUMO

Avaliação histológica da resposta inflamatória a cimentos de obturação endodôntica

A odontologia dos nossos dias tem trabalhado de forma incessante a fim de que seus resultados sejam notórios. Novas técnicas, novos materiais, enfim, mesmo assim os índices de cárie ainda atingem números que caracterizam seu risco. Não só a evolução da doença cárie, mas as iatrogenias também levam à necessidade do tratamento endodôntico que consiste em remoção de todo material necrótico e infectado e/ou inflamado do sistema de canais radiculares, desinfecção do mesmo sistema e sua substituição por material obturador. Verifica-se ainda, nos dias atuais, a falta de consenso entre os pesquisadores, sobre qual o material ideal a ser usado nas obturações endodônticas. Assim, o presente trabalho objetivou a realização de uma avaliação histológica comparativa, através de testes biológicos, segundo critérios estabelecidos pela Federação Dentária Internacional de dois materiais indicados para este fim. Neste experimento foram testados os seguintes materiais: AHPlus, MTA (mineral trióxido agregado) e o cimento endodôntico, recentemente lançado no mercado, Epiphany. Foram utilizadas 30 cobaias ("Guinea Pig") sendo 10 para cada material, divididas em períodos experimentais de 30 e 90 dias. Foram realizados 02 implantes intra-ósseos em cada animal, na região lateral à sínfise mandibular, próximos aos dentes incisivos. Para acondicionar os materiais testados foram utilizados copos de Teflon, sendo que as suas laterais serviram de controle. Decorridos os períodos experimentais, os animais foram sacrificados e os espécimes preparados para o exame histológico de rotina. Os resultados mostraram que os cimentos MTA e Epiphany apresentaram características de biocompatibilidade segundo os critérios adotados e o AHPlus não. Os resultados permitiram concluir, segundo os protocolos da FDI e ADA/ANSI, que os materiais MTA e Epiphany são biocompatíveis, apresentando condições biológicas para a utilização como material obturador endodôntico.

SUMMARY

Histological Evaluation of the inflammatory response to endodontic filling materials.

Dentistry in our days has been working in an incessant manner so that its results be well-known. New techniques, new materials, ultimately, even if the indexes of dental decay still reach a number that characterize risk. Not only the evolution of the disease decay, but also the iatrogenic make it necessary to have endodontic treatment that consists in the removal of all necrosis inflamed and infected material from the system of root channels, disinfection of the same system and its substitution by filling material. It also verifies, in the present day, the lack of consent among researchers, as to the ideal material to be used in the endodontic fillings. In this way, the present work aimed at the accomplishment of a comparative histological evaluation, through biological tests, according to criteria established by the International Dental Federation of three materials indicated for this end. In this experiment the following materials were tested: AHPlus, another endodontic material recently introduced to the market Epiphany and MTA, Aggregated Trioxide Mineral. Thirty (30) guinea-pigs were used (" Guinea Pig ") ten (10) for each material, divided in experimental periods of 30 and 90 days. Two (2) inter-bone implants were accomplished in each animal, in the lateral area to the mandible sínfisis, on the side of the incisive teeth. So as to condition the tested materials Teflon cups were used, as the sides served as control. Terminating the experimental periods, the animals were sacrificed and the specimens were prepared for routine histological exam. The results showed that MTA as much as the Epiphany cement presented biocompatibility characteristics according to the criteria adopted and AHPlus did not. The results allowed us to conclude, according to FDI and ADA /ANSI protocols, that the Epiphany and MTA materials are biocompatible, presenting biological conditions for their use as endodontic filling material.

Key -Words: biocompatibility, root canals sealers, endodontics.

INTRODUÇÃO

Endodontia, necessidade premente em se manter a vitalidade pulpar, preservar a saúde. Definida pela Associação Americana de Endodontia como: **“É o ramo da Odontologia que se preocupa com a morfologia, fisiologia e patologia da polpa dental humana e dos tecidos perirradiculares. Seu estudo e prática englobam as ciências clínicas básicas, incluindo a biologia da polpa normal, a etiologia, diagnóstico, prevenção e tratamento das doenças e injúrias da polpa e tecidos perirradiculares”**.

Assim, buscar a manutenção da vitalidade pulpar deveria ser condição primeira. Entretanto, altos índices de cárie e intervenções iatrogênicas levam à instalação de processos degenerativos pulpare, tornando-se necessária a terapia endodôntica radical.

Atualmente, a valorização da estética e o desenvolvimento de materiais e técnicas vêm promovendo o uso de produtos e materiais restauradores que, se não responsáveis, atuam como coadjuvantes na instalação de processos inflamatórios pulpare, muitas vezes irreversíveis.

Uma vez, sendo necessário o tratamento endodôntico, é condição para sucesso a completa remoção do conteúdo asséptico ou séptico do sistema de canais radiculares, através de uma correta biomecânica, seguido de uma obturação visando seu vedamento com um material possuidor de

propriedades físicas adequadas e que seja biocompatível, evitando agressões aos remanescentes pulpare apicais e aos tecidos periapicais.

Sabe-se que a anatomia endodôntica é complexa e, o acesso total a todos os canais é praticamente impossível. A guta percha, ainda hoje, é o material de eleição para o preenchimento dos canais radiculares, mas não possui qualidades satisfatórias para o completo vedamento deste sistema. Sendo assim, cimentos obturadores se fazem necessários, pois estes possuem qualidades físicas que possibilitam seu escoamento, buscando o preenchimento total dos canais radiculares. Destas qualidades, a biocompatibilidade é importante, pois muitas vezes o material obturador estará em íntimo contato com os tecidos da região periapical.

A busca de um cimento ideal tem sido motivo de constantes investigações, face à dificuldade de se obter um cimento com todas as propriedades desejáveis, o que leva ao surgimento de diversos materiais no mercado odontológico, nem sempre preenchendo os requisitos necessários.

Pode ser verificada, na literatura compulsada, a preocupação com os requisitos biológicos quando realizados os testes dos materiais indicados. A biocompatibilidade tem demonstrado ser requisito de grande importância, pois qualquer material que se apresente como excelente para o vedamento apical, não sendo aceitável biologicamente, pode determinar o insucesso desta modalidade terapêutica. Não se deve menosprezar o potencial de

toxicidade e irritação dos fármacos empregados durante o tratamento endodôntico, principalmente quando se sabe que existe absorção sistêmica destes medicamentos. Não devemos, por desconhecimento, contribuir para com a somatória de injúrias aos tecidos da região periapicais.

REVISÃO DA LITERATURA

A pesquisa envolvendo a avaliação da toxicidade dos materiais dentários deve obedecer a critérios científicos estabelecidos e aceitos internacionalmente. O Technical Report Nº 9 da Federação Dentária

Internacional e o Documento Nº 41 da ANSI/ADA recomendam três níveis de avaliação dos materiais utilizados na terapia intrarradicular: teste inicial “*in vitro*”, através de teste em cultura de células, teste secundário em animais de pequeno porte “*in vivo*”, subcutâneo ou intra-ósseo e o teste de uso em primatas subumanos e humanos.

A avaliação da biocompatibilidade de materiais utilizando metodologia “*in vitro*” tem sido aceita como rotina em estudos biológicos. SPANGBERG, (1978); PASCON, (1999); SOUSA, (2000, 2004).

O teste biológico através de implante intra-ósseo foi desenvolvido para avaliar a toxicidade “*in vivo*” daqueles materiais que deverão ficar em contato prolongado com o tecido ósseo. Vários métodos têm sido preconizados para a avaliação de materiais dentários em contato com o osso. O mais antigo deles envolvia o implante, em mandíbula de cães, de raízes de dentes humanos tratados endodonticamente. (MÜLLER, 1929 Apud PASCON, 1999).

Mais tarde, corpos de prova de materiais dentários foram implantados em tíbias de cobaias e ratos BERNHARDT & EUGLIG (1953); HUNTER (1957); em mandíbulas de seres humanos PILZ (1956); de cães EGER & FISCHER (1956); de ratos SPÄNGBERG (1968) e em ossos de coelhos FELDMAN & NYBORG (1962, 1964); FELDMAN et al. (1967). FRIEND &

BROWNE (1969) implantaram tubos de polietileno contendo materiais de obturação de canal em tibia de ratos. (Apud PASCON, 1999).

Entretanto, as diferenças entre espécies animais, sítios de implantação, métodos, tempos de observação, e dos critérios utilizados para a avaliação dos resultados, tornam extremamente difícil uma comparação objetiva dos resultados obtidos nos estudos.

SPANGBERG (1969) introduziu um método conveniente e simples para a realização de implantes na mandíbula de cobaias. O implante é colocado no triângulo ósseo formado entre os incisivos e a parte inferior da sínfise que une as duas metades da mandíbula. Esta área pode ser alcançada através de uma incisão extra-oral na pele e camada muscular submandibular. Quando a área é atingida, o periósteo é removido e uma cavidade é preparada em cada lado da sínfise. A cavidade deve ser preparada de maneira tal que seu tamanho final seja obtido através de brocas com diâmetros crescentes, começando com uma esférica menor, com rotação de 2000 a 3.000 rpm, e irrigação constante com solução salina esterilizada. A broca seguinte é espiral, à qual se segue uma broca de fissura de diâmetro equivalente ao do implante. O autor desenvolveu um veículo especial feito de Teflon[®], com ranhuras externas para retenção na cavidade óssea, a fim de carregar o material a ser estudado. O veículo tem a forma de um copo, com diâmetro externo de 2mm, interno de 1,3mm e comprimento de 2mm. Ao preenchê-lo com o material, deve-se tomar

cuidado para não contaminar a sua superfície externa, pois a mesma serve como controle negativo da técnica. Após o preparo da cavidade, a mesma é irrigada com solução salina e o copo com o material é inserido, tendo sua abertura direcionada para o osso. Quando a cavidade é realizada de maneira adequada, o copo se acomoda de maneira justa e as ranhuras se preenchem rapidamente com osso neoformado, mantendo-o em posição durante todo o experimento, independentemente das reações tissulares que possam ocorrer. Após a colocação dos implantes, os tecidos moles são recolocados em posição e suturados. Na introdução dessa técnica, o autor avaliou a compatibilidade de uma série de cimentos de obturação de canal: prata, cone de guta-percha, guta-percha bactericida, Chloropercha NÖ, amalgama de prata, Tubli-seal, Diaket, AH26, N2, pasta de hidróxido de cálcio e pasta de Riebler. Copos vazios de Teflon® introduzidos nas cavidades ósseas serviram como controle. Considerando que 11 materiais de obturação foram comparados, no que concerne ao seu potencial de irritação do tecido ósseo, os experimentos foram desenhados de modo a permitir análise estatística dos resultados. Dois materiais diferentes foram implantados, um em cada lado da sínfise, de maneira que pudessem ser comparados quanto à resposta inflamatória, a qual foi classificada em moderadamente severa (+) ou muito severa (++). Os resultados mostraram que o quadro histológico variou largamente entre os materiais usados, enquanto que as variações entre implantes do mesmo material eram muito pequenas. Os implantes de 2 semanas mostraram infiltrado de neutrófilos e células redondas para os cimentos Riebler, N2, Diaket e Tubli-seal. Havia

uma tendência regular de formação de cápsula sob a guta-percha, guta-percha bactericida, Chloropercha NÖ, e AH26. As cápsulas mais finas e bem organizadas foram vistas sob a guta-percha. O quadro inflamatório se repetiu após 12 semanas, com diferenças maiores entre os diversos materiais e uniformes entre implantes do mesmo material. Havia infiltração de células crônicas junto ao Tubli-Seal e N2 e, também, seqüestro ósseo junto ao N2 e a pasta Riebler. Esta última apresentava desorganização tissular e áreas de necrose com células gigantes de corpo estranho. O hidróxido de cálcio foi substituído por osso e, apenas pequenos defeitos foram vistos no lume do copo. Com exceção da prata, os outros materiais mostravam cápsulas de tecido fibroso de graus variados de espessura. O autor verificou que, após a análise dos resultados, foi possível estabelecer uma classificação dos materiais na seguinte ordem crescente de toxicidade, após 12 semanas: prata, hidróxido de cálcio, guta-percha, Chloropercha NÖ, guta-percha bactericida, amálgama de prata, AH26, Diaket, N2, Tubli-Seal, e pasta de Riebler.

GROSSMAN (1981) sugeriu que os materiais endodônticos deveriam apresentar uma série de requisitos, que são válidos até os dias atuais, e a compatibilidade biológica com os tecidos da região periradicular se reveste de importância, uma vez que esses materiais vão estar em permanente contato com os tecidos vivos daquela área, devendo-se excluir qualquer resposta irritante possível.

Estudos sobre a compatibilidade biológica dos cimentos obturadores têm sido conduzidos, utilizando métodos distintos, em experimentação direta em dentes humanos PASCON et. al. (1997); RICUCCI & LANGELAND (1998) e em animais PASCON et al. (1991); PASCON (1999). Todavia, em virtude das dificuldades na condução de um estudo histológico, bem como na avaliação da resposta dos tecidos perirradiculares em animais e humanos, os testes secundários “*in vivo*”, em animais de pequeno porte, assumiram uma importância fundamental na busca do material ideal.

Os métodos estandardizados para a avaliação das propriedades biológicas de materiais dentários são recomendados pelo TECHNICAL REPORT nº 9 (FEDERATION DENTAIRE INTERNATIONALE, 1980) e DOCUMENTO nº 41 (AMERICAN DENTAL ASSOCIATION / AMERICAN NATIONAL STANDARD INSTITUTE, 1982).

Diversos autores fizeram uso desta modalidade de teste biológico, em Endodontia, para a verificação da biocompatibilidade dos cimentos e pastas endodônticas, sendo ainda hoje aceitável mundialmente. (OLSSON et al. (1981b); PASCON et al. (1991,1998); BHAMBAHANI & BOLANOS (1993); ANDREANA et al. (1989); TORABINEJAD et al. (1998), SOUSA (2000), SOUSA et al (2004)).

Na mesma linha de trabalho *in vitro*, PASCON & LANGELAND (1989) testaram um cimento obturador de canal à base de hidróxido de cálcio – Apexit – que foi comparado com o AH26, Endo-Fill, Dentineol e o

Óxido de Zinco/Eugenol. Os materiais foram classificados por ordem decrescente de toxicidade, após 4 horas de contato material/célula, em: Fresco: ZOE, AH26, Dentinol, Endo-Fill, e Apexit; 24 horas de presa: ZOE, Endo-Fill, Apexit, AH26, e Dentinol; 60 horas de presa: ZOE, Endo-Fill, AH26, Dentinol, e Apexit. Os resultados confirmaram o trabalho anterior mostrando que, embora o AH26 e o Dentinol tenham apresentado uma toxicidade elevada quando recentemente preparados, ela era muito baixa após 24 e 60 horas e que o material Apexit apresentou baixa toxicidade em todo o experimento.

MOLLOY et al (1992) utilizaram o implante de tubos de polietileno no subcutâneo do rato para comparar as reações tissulares de seis materiais de obturação de condutos radiculares – Sealapex, AH26, Kerr Sealer, Roth's Sealer, e uma resina experimental, pura e misturada com prata para produzir radiopacidade – por períodos de 3, 10, 20, 30, e 60 dias. Os resultados mostraram que não foi possível distinguir diferenças entre todos os cimentos, com exceção do AH26 aos 10, 20, e 30 dias. Aos 60 dias, todos os cortes histológicos pareciam similares. Aos 3 dias, havia ainda inflamação aguda para todos os materiais, com alguns neutrófilos, mas com pequenas quantidades de tecido de granulação. Aos 10 dias, havia marcada diminuição da inflamação. Alguns macrófagos com material birrefringente no seu interior e algumas células gigantes de corpo estranho envolvendo algumas partículas pequenas de material estavam presentes. O grupo do AH26 apresentava algum edema e inflamação com neutrófilos e macrófagos.

Aos 20 dias, a inflamação estava diminuindo; uma pseudo-cápsula de tecido conjuntivo condensado estava formando e havia poucas células gigantes. O grupo do AH26 novamente demonstrou leve edema e inflamação. Aos 30 dias, a inflamação estava regredindo, a pseudo-cápsula estava formada, o número de células gigantes havia diminuído, e havia poucas células inflamatórias espalhadas. O AH26 apresentava ainda edema, que também estava diminuindo. Aos 60 dias, "tudo estava cicatrizado. A pseudocápsula estava bem formada, sem inflamação alguma". "Havia poucas células inflamatórias na entrada dos tubos, e havia ainda algumas células gigantes com partículas insolúveis no seu interior. O quadro geral era de inflamação muito suave e cicatrização. Todos os cimentos pareciam ser igualmente bem tolerados". Os autores concluíram que "todos os materiais implantados demonstraram uma inflamação inicial que decrescia rapidamente. Após 60 dias, o estudo demonstrou que todos os materiais eram comparáveis e bem tolerados".

BARBOSA et al (1993) analisaram os efeitos tóxicos dos materiais de obturação Fillcanal, N-Rickert, FS, e Sealer-26, utilizando o método de liberação de crômio em cultura de células L929 e fibroblastos de ligamento periodontal, em contato direto e indireto. O contato indireto mede a toxicidade dos componentes solúveis dos materiais. Os cimentos foram testados recentemente manipulados e após vários tempos de presa. Fillcanal, Rickert e FS mostraram alta toxicidade. Componentes solúveis

tóxicos do Fillcanal são liberados, tanto quando recentemente preparado quanto após a tomada da presa. O Sealer-26 foi o material menos tóxico.

LEONARDO et al. (1998) avaliaram, histologicamente, a resposta dos tecidos periapicais aos cimentos endodônticos à base de ionômero de vidro (Ketac-Endo) e Óxido de zinco e eugenol (Fill canal), em obturações endodônticas em cães. Utilizaram 34 raízes de pré-molares com vitalidade pulpar. Após a instrumentação os canais foram selados com os referidos cimentos e cones de guta-percha pela técnica de condensação lateral. Após 270 dias os animais foram sacrificados e as maxilas e mandíbulas removidas e fixadas em formol a 10%, por 48 horas. Após processamento histológico de rotina, com colorações por Hematoxilina-Eosina e Tricômico de Mallory, foram feitas as análises histológicas. Estas revelaram que o Ketac-Endo apresentou resultados bem melhores que o cimento Fill canal.

TORABINEJAD et al. (1998) realizaram experimentos com o propósito de examinar a reação tecidual do implante do MTA, amálgama, material restaurador intermediário (IRM) e Super-EBA nas tíbias e mandíbulas de Guinea pigs. Após anestesiarem vinte Guinea pigs, levantaram o retalho e prepararam cavidades ósseas. Os materiais testados foram colocados em copos de teflon e implantados em tíbias e dez dias depois em mandíbulas. Os animais foram sacrificados oitenta dias após e os tecidos foram preparados para exame histológico. A presença de inflamação, predominância de células típicas e cápsula fibrosa. A reação

tecidual para o implante com MTA foi o mais favorável. Estava livre de inflamação em todos os espécimes ($p < 0,01$). Na tibia, foi observada a aposição direta de osso nos experimentos realizados com o MTA. Baseados nesses resultados, os autores definiram o MTA como um material biocompatível.

KOLOKOURIS et al (1998) buscando avaliar a resposta inflamatória de cimentos endodônticos, implantaram o Apexit (cimento com hidróxido de cálcio) e o pulp canal sealer (óxido de zinco e eugenol), no subcutâneo de ratos, avaliando-os nos períodos experimentais de 5, 15, 60 e 120 dias. Notam que o Apexit causou reações inflamatórias severas, com áreas de necrose, aos 5 e 15 dias. A intensidade destas reações diminuiu nos próximos períodos experimentais, caracterizadas por um pequeno infiltrado macrofágico. Estas mesmas reações foram observadas com o Pulp Canal Sealer, embora com maior intensidade que o Apexit.

KOULAOUZIDOU et al. (1998) estudaram, “*in vitro*”, a citotoxicidade de três cimentos endodônticos à base de resina epóxica. Nesse experimento foram usadas células fibroblastos L 929 (de rato) e células RPC – CZA de polpa de rato. Os cimentos utilizados foram: AH26 s/prata; AHPLUS e TOPSEAL. Na análise calorimétrica SRB a citotoxicidade foi expressa em porcentagem da densidade óptica do controle e a contagem de células na placa de petri, foi calculada em porcentagem dos controles. Os resultados foram analisados pelo E-test usando o programa Excel 7.0 do Windows 95.

Os resultados mostraram que o AH26 apresentou efeito citotóxico mais alto em 24 e 48 horas, comparado com o AHPLUS e TOPSEAL, baseando-se na contagem de células. Resultados similares foram obtidos pela análise S.R.B. O AH26 exibiu um alto potencial citotóxico quando comparado aos outros cimentos. O AH PLUS e TOPSEAL não mostraram diferença nos seus efeitos citotóxicos. De acordo com o fabricante, a nova fórmula do AH PLUS, usam novos tipos de aminas e uma reação baseada na epóxi-amina térmica, o que indica que o AHPLUS exibe um potencial citotóxico mais baixo quando comparado ao AH26. O AHPLUS e o TOPSEAL mostraram toxicidades similares em ambos os métodos avaliados.

Avaliando a citotoxicidade e também a genotoxicidade, LEYHAUSEN et al. (1999), utilizaram o AHPLUS. Realizaram testes de citotoxicidade através da inibição de crescimento de células fibroblastos primários e permanentes de ligamento periodontal humano (3T3) e para a genotoxicidade utilizaram teste umu, avaliando a inibição da síntese de DNA. Verificaram que o AHPLUS causou pouca ou nenhuma injúria celular, mas houve expressão quanto a sua genotoxicidade.

PASCON (1999) testou o cimento experimental poliol (polímero derivado da mamona, comparando-o com os cimentos endodônticos AH26, Dentinol, Kerr e Sealapex, segundo os critérios estabelecidos pela FDI, realizando testes primários, através da aplicação de materiais em culturas de células para verificar sua citotoxicidade, realizando também os teste

secundários em conjuntivo e intra-ósseo, buscando elucidar a biocompatibilidade destes produtos. Após suas análises, ele concluiu que todos os cimentos de obturação de canal radicular testados são altamente irritantes aos tecidos vivos quando recentemente preparados. O nível de toxicidade diminuiu, de maneira geral, nos tempos mais longos de observação, após a presa final. Os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol (Kerr Sealer e Sealapex) continuaram apresentando altos níveis de toxicidade aos 90 dias de observação. As resinas estudadas (AH26 e Dentinol) apresentaram níveis de toxicidade menores no teste inicial após 24 horas e 60 horas), mas continuaram irritantes aos tecidos vivos nos testes secundários até os 90 dias de observação. De acordo com os critérios adotados pela FDI e ADA/ANSI os cimentos comerciais estudados apresentaram níveis não aceitáveis de toxicidade. O cimento experimental à base de poliuretana de mamona - POLIOL - apresentou níveis de toxicidade, no teste inicial, compatíveis com as outras resinas estudadas. Nos testes secundários, este material apresentou níveis de compatibilidade biológica aceitáveis.

LEONARDO et al. (1999) demonstraram a liberação de formaldeído em 4 cimentos endodônticos: AH26, ENDOMETASONE, AHPLUS e TOP SEAL. Os cimentos foram manipulados de acordo com as instruções do fabricante e mantidos em temperatura ambiente por 72 horas, para permitir a completa reação de presa. A leitura foi obtida por espectro ultravioleta (UV), o espectrofotômetro e o infravermelho. Uma massa de 0,05g de cada

cimento foi colocada em 50ml de água deionizada, agitada por 30 minutos e subsequente filtrada, para eliminar partículas sólidas. Os cimentos com base de óxido de zinco e Eugenol, modificados com parafina tornaram-se ativos antígenicamente. A liberação de formaldeído dada pela reação química do AH26 era atribuída para uma reação química entre o composto bisfenol A e o betametileno-tetramina.

MILETIC et al. (2000) estudaram quatro materiais obturadores para efeitos citotóxicos nos cimentos AH26, AH PLUS, DIAKET e APEXIT, usando fibroblastos L 929 de ratos e células Hela de carcinoma cervical humanos, que são somente usados em estudos citotóxicos "*in vitro*". Neste experimento, os fibroblastos de ratos L 929 e células humanas Hela foram suplementados com FCS a 10% e antibióticos crescendo em monocultura a 37°C, numa atmosfera úmida de CO₂ a 5%. Os cimentos foram manipulados de acordo com as instruções do fabricante em condições assépticas. Com uma seringa para insulina 0,01ml de cada cimento, foi colocado em discos de Teflon e colocados no centro de um reservatório. Um disco de Teflon sem nenhum material serviu como controle. Os cimentos foram colocados por 24 horas sob luz ultra violeta. Depois, em cada reservatório 3×10^4 células foram colocadas em 2 ml de soluções e incubadas por 24 e 48 horas. Os números de células viáveis (vivas) foram calculados em porcentagem. O grupo de células de controle mostrou-se normal. Com o AHPLUS e DIAKET, as células modificaram sua forma tornando-se achatadas ou arredondadas. O AH26 causou perda completa das células após inclusão de 24 horas. Em

amostras com AH26 e AHPLUS nenhuma célula viva foi observada após 24 horas, o que indica um número de células viáveis abaixo de 1%. O AHPLUS, o AH26 e DIAKET reduziram significativamente o número de células em todos os períodos de incubação (24, 48 e 120 horas), nos dois tipos de células (Hela e L 929). O AHPLUS foi mais tóxico que o AH26 nas células L 929 (ratos) tratadas por 24 horas e 120 horas, e nas células Hela tratadas por 120 horas, mas não mostraram diferenças em relação ao DIAKET. O AH26 e o AHPLUS contém resina epóxica e isso pode ser outra causa da citotoxicidade de ambos os materiais.

AZAR et al. (2000) compararam os efeitos citotóxicos do AHPLUS, AH26 e Óxido de zinco e eugenol em fibroblastos gengivais humanos, usando a análise citotóxica N.R. Sob condições assépticas e anestesia local, uma pequena biópsia de tecido gengival normal, na região de molar inferior, foi obtido de um paciente saudável. O tecido foi armazenado por 2 horas em 10ml de meio de cultura completo (RPMI-1640). O tecido foi lavado várias vezes no mesmo meio e na última lavagem o meio de cultura, foi complementado com concentrações normais de penicilina, estreptomicina, gentamicina, nistatina. O tecido foi colocado em um frasco plástico e completou-se com 4ml de meio de cultura completo mais antibiótico e incubados a 5% Co_2 + 37°C e umidade saturada. Os cimentos usados neste estudo foram ZOE, AH26 e AH PLUS. Eles foram manipulados de acordo com as instruções do fabricante e colocados em discos de alumínio. Os discos foram colocados em reservatórios contendo 2ml de meio de cultura.

Os resultados mostraram que o AHPLUS exibiu uma citotoxicidade imediatamente após manipulação. Depois disso, uma redução considerável da citotoxicidade foi evidente e nenhuma diferença entre o AHPLUS e grupo controle. Esta citotoxicidade leve do AHPLUS pode provavelmente ser devido um conteúdo baixo de componentes tóxicos solúveis em água. Esta pequena toxicidade pode induzir respostas inflamatórias de pequena intensidade “*in vivo*”, como sintomas pós-operatórios menores. Baseado nos resultados obtidos, o AHPLUS é mais compatível que os dois outros cimentos. Os resultados obtidos podem dar uma visão geral dos efeitos biológicos dos materiais dentários, podendo ser útil para as elucidações das condições “*in vivo*”.

COHEN et al. (2000) determinaram “*in vitro*” a citotoxicidade de dois cimentos endodônticos: AH26 e o AHPLUS, através de teste de difusão em agar, segundo procedimentos descritos pela International Organization for standardization. Culturas de células L929, fibroblastos de rato, foram utilizadas. Após 48 horas de observação foram verificadas reações severas (grau 4) para os dois materiais analisados. Verificou-se reação moderada (grau 3) para o controle positivo e ausência de reação para o controle negativo (grau 0). Nesta modalidade de teste os materiais foram considerados citotóxicos e, estes resultados foram consonantes com outros trabalhos referentes ao AH26 reportados na literatura.

LEONARDO et al. (2003) utilizaram diferentes materiais obturadores endodônticos, para estudarem a reparação apical e periapical em dentes de

cães, com lesão periapical e com lesão crônica. Foram utilizados 44 raízes dos 2º, 3º e 4º pré-molares inferiores e 3º pré-molar superior em 3 cães, divididos em 3 grupos. Os canais radiculares foram inicialmente explorados com limas n.º 20 e expostos à cavidade oral por 7 dias, para permitir a contaminação bacteriana. Após esse período, as câmaras pulpares, já limpas e secas, foram seladas com cimento de óxido de zinco e eugenol. Após 30 dias, foram feitas as radiografias com intervalos de 15 dias, até que imagens radiolúcidas sugerindo reação apical crônica, fossem observadas. Sob nova anestesia e colocação do dique de borracha, a neutralização do conteúdo séptico tóxico foi realizado, usando limas K e hipoclorito de sódio a 5,25%. Após a instrumentação, o uso do Edta 17%, os canais foram irrigados e secos. O Calen com PMCC foi utilizado como medicação intracanal por 15 dias, selados com ZOE. Decorrido este período os canais foram obturados com Sealapex, AHPLUS e Sealers utilizando-se a técnica clássica e complementada com condensação lateral. Após 180 dias, os cães foram sacrificados, as raízes fixadas e desmineralizadas com Edta. Os blocos obtidos foram cortados em secções seriadas de 6 micrômetros de espessura e corados com hematoxilina e eosina. Dos 18 canais radiculares que receberam o curativo de Calen com PMCC durante 15 dias e obturados com AHPLUS, 4 tiveram um selamento apical total, com neoformação de tecido mineralizado, enquanto 12 tiveram selamento parcial. Nenhum selamento ocorreu em 2 canais. A superfície de cimento apical era regular com cimento neoformado, com muitos cementoblastos e fibras colágenas. A lacuna de cimento na região apical estava, freqüentemente, vazia ou

continha tecido conjuntivo normal. A região periapical ficou pouco maior em 11 amostras, moderada maior em 5 raízes demasiadamente maior em 2 raízes. Nesta região o infiltrado inflamatório era discreto e difuso em 14 raízes, composto de células fagocitárias mononucleares. Uma formação óssea alveolar fina foi encontrada ao redor de todos os ápices, que freqüentemente, eram desprovidos de ou com reduzidos osteoblastos em suas superfícies. Nas raízes onde houve formação de cimento ao redor, não foram observadas presença de infiltrado inflamatório. Baseado nos resultados obtidos da análise histopatológica dos tecidos apicais e periapicais concluíram que: - Os cimentos Sealapex e AHPLUS mostraram respostas teciduais satisfatórias, levando à reparação das regiões apicais e periapicais. - O cimento Sealers Plus mostrou resultados histopatológicos insatisfatórios e considerável ação irritante aos tecidos.

Através de metodologia estabelecida pela Federação Dentária Internacional, SOUSA (2000), SOUSA et al (2001), (2004), PASCON et al (2001) tem testado materiais obturadores endodônticos a base de óxido de Zinco e eugenol, resinosos, resinas fotopolimerizáveis, cimentos experimentais derivados da mamona (castor oil), cimentos à base de hidróxido de cálcio, etc, avaliando seus comportamentos quando em contato direto com tecido conjuntivo, tecido ósseo e, afirmam que, de maneira geral os cimentos endodônticos tem-se mostrado irritantes aos tecidos, promovendo reações inflamatórias do tipo corpo estranho nos mais variados graus de intensidade.

Buscando novo animal para o desenvolvimento da metodologia de implantes subcutâneos, ZAFALON (2004) realizou implantes de tubos de teflon em dorso de "*Calomys callosus*" adaptando-se aos critérios da Federação Dentária Internacional. Testou os cimentos endodônticos EndoRez e Endomethasone. Estes materiais foram introduzidos, acondicionados em tubos de teflon, no subcutâneo e as reações inflamatórias avaliadas em 30, 60 e 90 dias. Verificou, após a análise histológica, em cortes semi-seriados que o cimento Endomethasone, à base de óxido de zinco e eugenol, associado a um antiinflamatório apresentou aspecto de biocompatibilidade aceitável por desenvolver uma reação inflamatória moderada, inicialmente, evoluindo para suave nos tempos experimentais finais. O cimento EndoRez, à base de resina, conferiu uma inaceitabilidade do ponto de vista da biocompatibilidade, por apresentar uma reação inflamatória severa a moderada nos primeiros tempos experimentais, persistindo no tempo final de avaliação.

Seguindo também a metodologia preconizada pela Federação Dentária Internacional, CHITA (2004), realizou experimentos biológicos, para verificar a biocompatibilidade de cimentos endodônticos, através da reação inflamatória produzida por eles quando implantados em tecido subcutâneo de cobaias. Observou estas respostas a implantes de EndoRez, AHPlus e o cimento endodôntico Konne, produzido recentemente no Brasil. Pode-se

verificar, aos 30 e 90 dias, que nenhum destes cimentos apresentou características de biocompatibilidade, segundo os padrões estabelecidos.

Buscando avaliar um novo material obturador endodôntico, SHIPPER et al. (2004), compararam os níveis de infiltração bacteriana, utilizando *Streptococcus mutans* e *Enterococcus faecalis* em diversos tipos de obturações, in vitro. Os materiais utilizados foram a AH26, guta percha, Resilon e Epifany, os quais foram combinados através das técnicas de obturação por condensação lateral ou vertical. Verificaram, nos períodos observados que, independentes das técnicas utilizadas, as menores infiltrações ocorreram quando foram utilizados os materiais Resilon e Epiphany. Atribuem a excelente capacidade de selamento do resilon com Epiphany devido ao fato destes formarem um monobloco aderindo estes às paredes dentinárias, o que foi registrado através de microscopia eletrônica. Tal fato não foi verificado quando do uso do AH26.

Também, buscando avaliar o material obturador resilon, TEIXEIRA et al. (2004), realizaram testes de resistência à fratura com máquina Instron, aplicando forças axiais em raízes obturadas com o cimento AH26 e com este novo material obturador. Verificaram que quando utilizado o Resilon, houve um grande aumento na resistência à fratura. Concluem que quando os canais são obturados com este material, há um aumento na resistência à fratura radicular e, constitui uma alternativa à obturação convencional.

Ainda realizando estudos sobre as características do Resilon/Epíphany (RMS), SHIPPER et al, (2005), continuam realizando experimentos. Neste trabalho verificaram o aparecimento de inflamação periapical em dentes de cães tratados endodonticamente com este novo material e com o AH26, após a inoculação coronária de microorganismos bucais (placa dental). Após 14 semanas de contaminação bacteriana na região coronal, os animais foram sacrificados e os espécimes preparados para avaliação por microscopia ótica. Após a verificação histológica e estatística afirmaram que o AH26 possibilitou o aparecimento expressivo de reações periapicais (82%) do grupo estudado e, o Resilon comportou-se de maneira similar ao grupo controle.(19%). Associaram o ocorrido com o fato do sistema Resilon formar um monobloco, com penetração nos túbulos dentinários, proporcionando mais adesividade e, portanto, ser mais resistente à infiltração bacteriana.

MILETIC et al. (2005), realizaram testes de citotoxicidade em células HeLa(carcinoma cervical humano) e em células L929 (fibroblastos de pele de rato), do cimento AHPLUS comparando-o com o RoekoSeal Automix(RSA) em períodos de 1, 24, 48 horas, 7 dias e 1 mês após sua manipulação. Após 5 dias de incubação, o número de células foi determinado utilizando um contador eletrônico. O número de células viáveis foi determinado utilizando microscopia ótica. Verificaram que o AHPLUS foi significativamente mais citotóxico após 1, 24 e 48 horas quando comparado

aos períodos de 7 dias e 1 mês. O cimento RoekoSeal apresentou menos citotoxicidade.

Desenvolvido por Mohamoud Torabinejad, Universidade de Loma Linda-Califórnia, E.U.A., o MTA (Mineral Trióxide Aggregate) é um novo material obturador que tem merecido destaque, nesta última década. Segundo definição do próprio fabricante, este material é indicado na utilização de proteções pulpares diretas, pulpotomias, apesificações, tratamento de perfurações radiculares, reparação de perfurações em consequência das reabsorções internas, reparação de perfurações cirúrgicas e retroobturações em cirurgias parodontodônticas. As principais moléculas presentes no MTA são íons cálcio e fósforo. Segundo esses autores, como esses íons também são os principais componentes dos tecidos dentais, confere ao MTA excelente biocompatibilidade, quando em contato com células e tecidos. As análises efetuadas demonstraram que o MTA, após tomar pressão, passa a ser constituído por óxido de cálcio na forma de cristais discretos e o fosfato de cálcio, como uma estrutura amorfa, com aparência granular.

TORABINEJAD et al. (1994) realizaram investigações sobre a capacidade seladora do Amálgama, Super EBA, IRM e o MTA, na presença ou ausência de sangue em cavidades apicais de 90 dentes humanos extraídos. Após a contaminação das amostras com sangue, foi realizado o teste de infiltração marginal com azul de metileno a 1%. Decorridas 72 horas os níveis de infiltração foram medidos e analisados, estatisticamente,

através da análise de variância. A presença ou ausência de sangue não foi significativa, mas os resultados mostraram-se significantes para as diferenças de infiltração entre os materiais analisados ($p < 0,0001$). O Mineral Trióxido Agregado infiltrou significativamente menos que os outros materiais testados, com ou sem contaminação das cavidades apicais por sangue.

Em 1997 TORABINEJAD et al. realizaram estudos com o propósito de avaliar a resposta dos tecidos perirradiculares, em dentes de macacos, do MTA, comparado-o com o amálgama durante as obturações retrógradas. Removeram as polpas dos incisivos superiores de três macacos. Os canais foram preparados e obturados pela técnica de condensação lateral e restaurados com amálgama. Após cirurgia de acesso, ostectomia, os ápices dentais foram removidos, preparadas as cavidades apicais e obturadas com MTA e amálgama. A avaliação histológica foi realizada após cinco meses do início do experimento. As análises mostraram formação de cimento radicular em volta do ápice operado em cinco das seis amostras avaliadas para o MTA, enquanto que nos ápices obturados com o amálgama foi verificada a presença de processo inflamatório perirradicular, não formando cimento em volta do ápice cortado. Baseados nestes resultados e em investigações prévias passaram a indicar o MTA para obturações em humanos.

TORABINEJAD et al. (1998) realizaram experimentos com o propósito de examinar a reação tecidual do implante do MTA, amálgama, material

restaurador intermediário (IRM) e Super-EBA nas tíbias e mandíbulas de Guinea pigs. Após anestesiarem vinte Guinea pigs, levantaram o retalho e prepararam cavidades ósseas. Os materiais testados foram colocados em copos de teflon e implantados em tíbias e dez dias depois em mandíbulas. Os animais foram sacrificados oitenta dias após e os tecidos foram preparados para exame histológico. A presença de inflamação, predominância de células típicas e películas de tecido conjuntivo fibroso adjacente foram anotadas. A reação tecidual para o implante com MTA foi o mais favorável. Estava livre de inflamação em todos os espécimes ($p < 0,01$). Na tíbia, foi observada a aposição direta de osso nos experimentos realizados com o MTA. Baseados nesses resultados, os autores definiram o MTA como um material biocompatível.

PROPOSIÇÃO

A proposta deste trabalho é investigar o comportamento biológico de 3 cimentos endodônticos; um recentemente lançado no mercado, Epíphany comparando-o ao AHPlus, material aceito e pesquisado mundialmente, e também ao MTA (Mineral Trióxido Agregado), através de um modelo experimental de implantes em tecido ósseo, segundo metodologia definida pela FDI, 1980, ANSI/ADA, 1982.

MATERIAIS E MÉTODO

-Materiais testados:

Os materiais objetos deste estudo foram:

Figura 1- AH Plus (Dentsply)



Figura 2- Epiphany (Pentron Clinical Technologies, Wallingford, CT)



Figura 3 - Pro Root MTA (Dentsply)



Tabela 1- composições dos cimentos testados

AH Plus™	
Pasta A	Pasta B
Resinas Epóxicas Tungstato de cálcio Óxido de zircônio Sílica Pigmentos de óxido de ferro	Aminas Tungstato de cálcio Óxido de zircônio Sílica Óleo de silicone
Epiphany™	
Epiphany™ Primer	Solução monomérica acidificada aquosa
Epiphany™ Resina Suave	Resina EBPADMA (etoxilato bisfenol A dimetacrilato) com foto-ativador, aminas, estabilizador e Vermelho # 40
Epiphany™ Primer Selador de canal radicular	Mistura de resinas UDMA (uretanodimetacrilato), PEGDMA (Polietilenoglicoldimetacrilato), EBPADMA e BISGMA (bisfenolglicidilmetacrilato), vidros de borosilicato de bário (contendo pequena quantidade de óxido de alumínio), sulfato de bário, sílica, hidróxido de cálcio, oxicloreto de bismuto com aminas, peróxidos, foto-ativador, estabilizantes e pigmentos
Epiphany™ Pontas (cones)	Composto de poliéster, resina difuncional de metacrilato, vidro bioativo, filtros radiopacos e corantes
Pro Root MTA	Silicato tricálcico, Aluminato tricálcico, Óxido tricálcico e Óxido de silicato, Óxido de bismuto, As principais moléculas presentes no MTA são íons Cálcio e Fósforo.
Depois da Presa	Óxido de cálcio na forma de cristais discretos e o Fosfato de cálcio, 87% de cálcio, 2,47% de sílica e o restante oxigênio. As áreas da estrutura amorfa contêm 33% de cálcio, 49% de fosfato, 2% de carbono, 3% de cloreto e

-Implante Intra-ósseo:

Esta modalidade de teste é realizada para se avaliar a toxicidade “*in vivo*” dos materiais utilizados em Odontologia e que estão em contato direto com o osso.

Para este experimento foram utilizadas 30 cobaias machos (guinea-pig) com aproximadamente 800 gramas de peso e cada animal recebeu 02 implantes em suas mandíbulas, nas regiões localizadas entre as raízes dos dentes incisivos e a sínfise mentoniana, conforme ilustrado na figura 03.

Foram utilizados 10 animais para cada material, divididos em períodos experimentais de 04 e 12 semanas (5 cobaias para cada período). Assim, puderam ser avaliados 30 implantes para cada material, sendo 10 para cada tempo experimental.

Os animais foram submetidos à anestesia geral através de injeção intramuscular de 0,6 ml de ketamine (100mg/ml) misturada com acepromazine (0,5mg/ml). Após a anestesia foram realizados os procedimentos necessários à manutenção da cadeia asséptica, tricotomia da região mentoniana e, injeção local intra-oral, na área de implante, de aproximadamente 0,5 ml de xilocaína a 2% com epinefrina 1/100.000, buscando evitar desconforto e movimentação do animal.

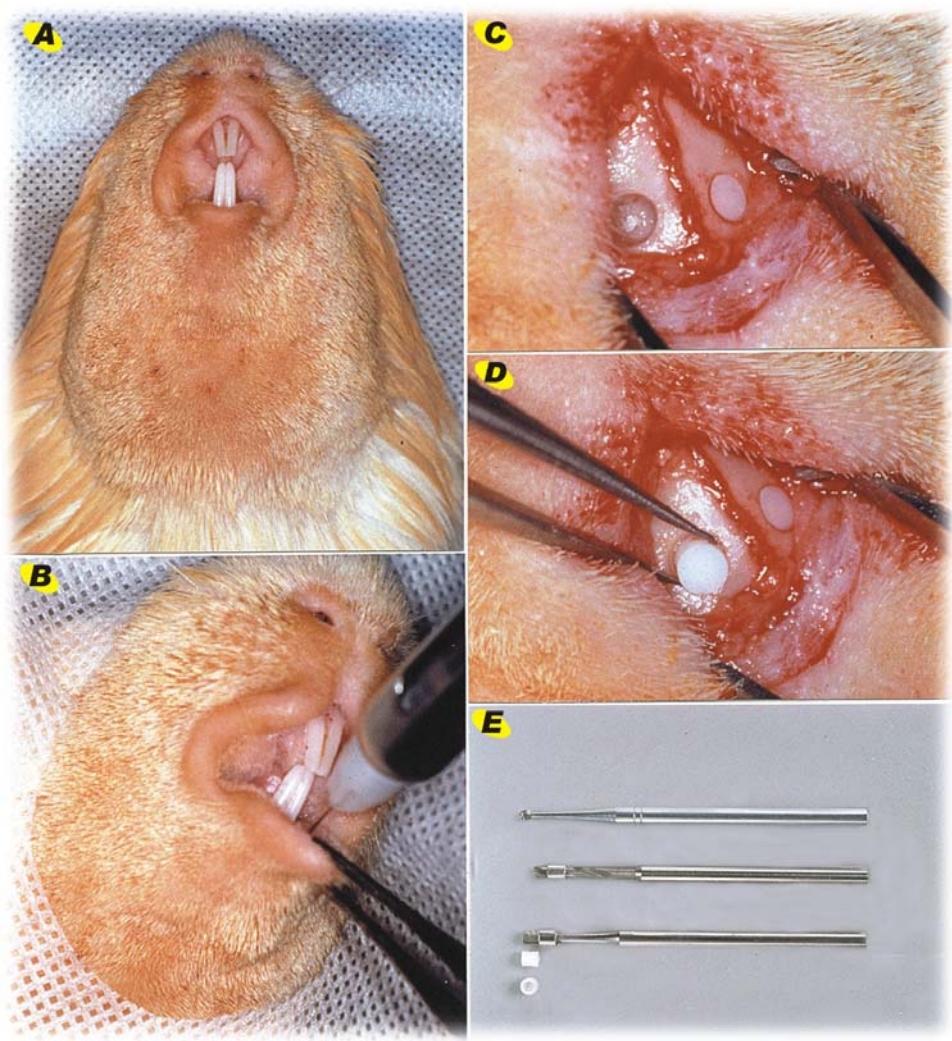


Figura 4: Ilustração da metodologia de implante intra-ósseo, onde se observa: A- tricotomia e desinfecção com álcool iodado, B- instalação de campo cirúrgico fenestrado e anestesia infiltrativa, C e D- lojas ósseas e posicionamento dos implantes, E- brocas especiais e copos de teflon.

Após a incisão, deflexão do retalho cirúrgico e exposição do osso, foram feitos preparos cavitários em ambos os lados da sínfise mandibular, com 2 mm de diâmetro e de profundidade, para receber copos de teflon, com o material manipulado conforme técnica preconizada.(fig.4)

Para este procedimento foi utilizado micro-motor cirúrgico a uma rotação de 2000 a 3000 rpm com brocas especiais padronizadas (Fig.4E), sob irrigação constante com soro fisiológico esterilizado.

Este dispositivo cilíndrico de teflon é aberto em uma de suas extremidades, sendo que a sua superfície externa contém sulcos para a sua melhor fixação no tecido ósseo. Este cilindro possui 2 mm de comprimento com 1,3 mm de diâmetro interno e 2mm de diâmetro externo. (Fig.4E). Sua limpeza e descontaminação foram realizadas através da imersão em clorofórmio, para a remoção de graxa impregnada quando da sua usinagem, seguido por banhos em álcool 70%, dois banhos em água destilada e, finalmente, autoclavados antes de serem utilizados.

Realizados os implantes e, decorridos 30 e 90 dias de observação, os animais foram sacrificados e as mandíbulas seccionadas para a obtenção da região mentoniana, contendo os implantes. Estes espécimes foram fixados em solução de formol a 10%, tamponado com cacodilato de sódio, mantidos a 4 graus centígrados para a pré-fixação e levados ao laboratório a fim de serem preparados para o devido processamento histológico.

- Procedimentos Laboratoriais:

- Preparo Histológico:

Após a permanência no fixador por no mínimo 48 horas os blocos foram lavados por 12 horas em água corrente, descalcificados com solução aquosa de ácido nítrico a 5%. A desidratação foi realizada mergulhando os espécimes em solução de álcool etílico, em concentrações crescentes de 50%, 70%, 90% e absoluto. Posteriormente, procedeu-se a inclusão dos espécimes em parafina (Paraplast) para a confecção de 24 lâminas objetivando 144 cortes histológicos semi-seriados, estando o micrômetro regulado para cortes de 5 micrômetros. Os cortes foram realizados em planos paralelos à direção de entrada do copo, visando a exposição da interface de contato do material com o tecido ósseo. A técnica de coloração foi realizada utilizando-se a hematoxilina e eosina. Após o processamento de rotina, as lâminas foram avaliadas em microscopia óptica.

- Critérios histológicos:

Foram coradas 06 lâminas, totalizando 36 cortes, escolhidos em intervalos regulares nas 24 lâminas. (1ª e a cada 4ª lâmina). A interface na abertura do copo, entre o material que está sendo testado e o osso foi a área avaliada.

Como controles, foram observadas as interfaces laterais entre o copo de teflon e o osso contíguo, pois esta área reflete o trauma causado pelo procedimento cirúrgico durante a inserção deste copo, sendo este material considerado inerte.

Foram anotadas as seguintes observações:

- 1- A presença ou ausência de necrose;
- 2- A frequência e intensidade de células inflamatórias agudas e crônicas – neutrófilos, linfócitos, macrófagos, mastócitos, plasmócitos e células gigantes de corpo estranho;
- 3- A possível reabsorção do material e o preenchimento do copo por osso;
- 4- Atividade osteolítica, osteoclástica ou osteoblástica;
- 5- Degeneração e desintegração de células inflamatórias;
- 6- Transporte do material à distância em vasos e células;
- 7- Alterações em vasos e nervos.

As reações inflamatórias foram classificadas em suave, moderada e severa.

-Reação inflamatória suave: A designação de inflamação suave foi dada aos espécimes que mostraram poucas células inflamatórias, na maioria linfócitos e plasmócitos e o tecido ósseo com características histológicas identificáveis;

-Reação inflamatória moderada: A designação de inflamação moderada foi dada aos espécimes que mostraram acúmulo focal de células inflamatórias, mas sem tecido necrótico. Entretanto, poderia haver desarranjo das características histológicas do tecido ósseo;

-Reação inflamatória severa: Esta designação foi dada aos espécimes que mostraram substituição do tecido ósseo por tecido inflamatório. Foram, também, avaliados a extensão e o tipo necrótico, por exemplo, liquefação ou coagulação.

- Requisitos histológicos:

O plano de corte histológico deve passar pela abertura do copo, incluindo toda a interface entre o material e o osso. Os cortes histológicos não devem conter artefatos histológicos que prejudiquem a avaliação.

Experimentos, testes ou controles que resultaram em cortes que não preencheram estes requisitos foram repostos.

- Avaliação:

A severidade da resposta celular decidiu a aceitabilidade ou não dos materiais. Esta foi alcançada através do registro dos achados, de acordo com o critério FDI e ANSI/ADA a seguir:

a)- Reação inflamatória suave:

Aos 30 dias após a realização do implante há ausência ou mínima inflamação presente. O tecido ósseo está organizado, com inflamação na área de abertura do copo, comparável com aquela ao longo das paredes externas do copo. Ausência de reabsorção óssea.

Aos 90 dias a reação tecidual, na abertura do copo, é comparável àquela ao longo de sua periferia. O tecido está bem organizado com total regeneração óssea, ausência completa de inflamação e, possivelmente presença de algumas células de corpo estranho.

b)- Reação inflamatória moderada:

Aos 30 dias de implante, há alguma inflamação na entrada do copo e nenhuma ou mínima, na sua periferia. O tecido adjacente ao material testado terá mantido sua estrutura, contendo linfócitos, plasmócitos, macrófagos e ocasionalmente células gigantes de corpo estranho, mas sem acúmulo de neutrófilo. Reabsorção óssea suave poderá estar presente.

Aos 90 dias há a presença de algumas células inflamatórias, linfócitos, macrófagos e ocasionalmente células gigantes de corpo estranho na entrada do copo. O tecido está bem organizado, com total regeneração óssea e linfócitos, plasmócitos e células gigantes de corpo estranho espalhadas, mas sem reabsorção do osso.

c)- Reação inflamatória severa:

Aos 30 dias há uma reação inflamatória distinta na abertura do copo, quando comparada com sua periferia. O tecido está pobremente organizado e contém acúmulo de neutrófilos. Reabsorção óssea poderá estar presente.

Aos 90 dias há uma reação inflamatória distinta na abertura do copo, com osso regenerado e tecido fibroso ao longo de sua periferia. O tecido, na abertura do copo, está organizado, mas contém acúmulo de linfócitos, plasmócitos e macrófagos (inflamação crônica). Reabsorção óssea poderá estar presente.

- Interpretação:

A interpretação dos resultados foi realizada através da análise dos dados obtidos demonstrando a aceitação ou rejeição do material, baseando-se no seguinte:

- Nenhuma ou suave reação inflamatória nos dois períodos: aceitável.
- Nenhuma ou suave reação inflamatória aos 30 dias, que aumente no período subsequente para moderada ou severa: não aceitável.
- Reação moderada aos 30 e 90 dias: não aceitável.
- Reação moderada aos 30 dias, que diminui aos 90 dias: aceitável.
- Reações severas em qualquer período: não aceitável

RESULTADOS

- Controles:

Como definidos no item 4.12.10, pag. 175 do FDI Technical Report Nº 9 (1980) foram utilizadas as áreas de contato do implante de Teflon com o osso circundante para a verificação do grau de agressão imposta ao tecido ósseo, quando do ato cirúrgico e o procedimento de inserção do copo do teflon. São achados rotineiros a justaposição de tecido ósseo em torno do copo e sua total inclusão, com neoformação óssea restabelecendo a cortical vestibular já aos 30 dias e com maior quantidade aos 90 dias.(Fig. 5a , 6a , 7a, 8a, 9a e 10a respectivamente). Pode ser verificado que ocorreu o crescimento ósseo em progressão para dentro das ranhuras laterais do implante como ilustram as referidas figuras e, quando não em íntimo contato, o osso apresentou-se separado deste por uma fina camada de tecido conjuntivo, sem mostras de reação inflamatória expressiva. Estas verificações histológicas estiveram presentes, como rotina, nos espécimes avaliados, demonstrando a biocompatibilidade do teflon.

5.2- Materiais testados:

A tabela 2 representa os tempos de observação e a distribuição dos números de implantes estudados. Foram realizados 30 implantes no total, para todos os materiais e tempos de observação. Ilustra, ainda, os aspectos gerais das respostas inflamatórias de cada material e a intensidade da inflamação verificada em cada material implantado.

TABELA 2- Relação dos implantes intra-ósseos e a qualidade das respostas inflamatórias.

	AHPLUS		EPÍPHANY		MTA		CONTROLE	
DIAS	30	90	30	90	30	90	30	90
N implantes	10	10	10	10	10	10	30	30
Suave	-	4	8	10	10	10	-	-
Moderada	3	6	2	-	-	-	-	-
Severa	7	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL	10	10	10	10	10	10	30	30

As ocorrências histopatológicas que se fizeram mais freqüentes são descritas nas tabelas 3, 4 e 5, segundo o material e o tempo de observação, em que pode ser evidenciado o caráter do processo inflamatório que se instalou nas diversas fases deste experimento.

As tabulações dos grupos celulares e eventos são resultados do agrupamento das observações dos cortes histológicos avaliados, nos diversos tempos experimentais. Estas avaliações foram realizadas através de uma análise qualitativa, subjetiva, observando-se o aspecto geral do quadro inflamatório instalado.

TABELA 3- Avaliação histológica do implante **AHPLUS** aos 30 e 90 dias

DIAS	30	90
NEUTRÓFILOS	XXX	X
MACRÓFAGOS	X	XX
LINFÓCITOS	X	XX
PLASMÓCITOS	X	X
CÉLULAS GIGANTES	XX	XX
MATERIAL DISPERSO	XX	XX
CÁPSULA	XXX	XX
TECIDO ÓSSEO REMODELADO	X	XX
TECIDO NECROSADO	XX	X
REABSORÇÃO	XX	X
INFLAMAÇÃO*	XXX	XX

*

X-Suave	XX-Moderado	XXX-Severo
---------	-------------	------------

TABELA 4- Avaliação histológica do implante **EPIPHANY** aos 30 e 90 dias

DIAS	30	90
NEUTRÓFILOS	X	X
MACRÓFAGOS	X	X
LINFÓCITOS	X	X
PLASMÓCITOS	X	X
CÉLULAS GIGANTES	X	X
MATERIAL DISPERSO	XXX	XXX
CÁPSULA	X	X
TECIDO ÓSSEO REMODELADO	XX	XX
TECIDO NECROSADO	X	X
REABSORÇÃO	X	X
INFLAMAÇÃO*	X	X

*

X-Suave	XX-Moderado	XXX-Severo
---------	-------------	------------

TABELA 5- Avaliação histológica do implante **MTA** aos 30 e 90 dias

DIAS	30	90
NEUTRÓFILOS	X	X
MACRÓFAGOS	X	X
LINFÓCITOS	X	X
PLASMÓCITOS	X	X
CÉLULAS GIGANTES	X	X
MATERIAL DISPERSO	XX	X
CÁPSULA	X	X
TECIDO ÓSSEO REMODELADO	XXX	XXX
TECIDO NECROSADO	X	X
REABSORÇÃO	X	X
INFLAMAÇÃO*	X	X

*

X-Suave	XX-Moderado	XXX-Severo
---------	-------------	------------

Avaliação da resposta inflamatória:

Controle:

Podem ser observadas as interfaces dos copos de teflon implantados e as estruturas ósseas. Geralmente estes circundaram intimamente os implantes, nos dois períodos de avaliação, se fazendo mais expressivo aos 90 dias. Houve crescimento ósseo na porção cortical, incluindo totalmente o implante. (Fig. 5A, 6A, 7A). A ocorrência de células gigantes do tipo corpo estranho foi uma verificação constante, mas com baixa intensidade, principalmente nas regiões das ranhuras dos copos, juntamente com a formação de uma tênue camada de tecido conjuntivo.

Quando não, pode-se verificar osso em íntimo contato com o teflon, demonstrando sua biocompatibilidade.

30 Dias

As respostas inflamatórias aos materiais testados variaram de suave a severa, apresentando-se com menor grau para o Epiphany e MTA e mais expressiva nos testes com o AHPLUS. (Tab. 3, 4 e 5)

As reações frente ao AHPLUS se processaram de maneira moderada a severa (Tab. 2 e 3), com a formação de cápsula fibrosa com intenso infiltrado inflamatório, fragmentos necróticos de tecido ósseo (Fig. 6D), apresentando acúmulo focal de linfócitos, macrófagos, células gigantes, plasmócitos. Pode ser verificado também a presença de material disperso, encontrado à distância da interface material implantado/tecido ósseo subjacente.

As reações frente ao Epiphany foram, de maneira geral, consideradas suaves (Tabela 2 e 4), apresentando poucas células inflamatórias. Uma camada de tecido conjuntivo interposto entre o material e o tecido ósseo foi verificada, principalmente quando o implante se alojou junto ao dente ou próximo ao ligamento periodontal e, este se apresentou rico em fibroblastos e estruturas fibrilares de colágeno neoformado e infiltrado inflamatório. (Fig. 6A) De maneira particular, em todos os espécimes

avaliados foi possível verificar a presença de material disperso à distância, presente em regiões medulares, englobadas por osso ou tecido conjuntivo.(Fig.6C e D). Células gigantes do tipo corpo estranho se fizeram presentes, de maneira pouco expressiva.

Frente ao M.T.A. pode ser verificada pouca ou nenhuma agressão ao tecido ósseo subjacente. O que se verificou foi a inclusão do copo de teflon com o material ao osso receptor, não se evidenciando tipos celulares que identificassem reação inflamatória. Na fig 7 pode ser observado tecido ósseo neoformado em íntimo contato com o material testado

90 Dias

Decorrido este tempo experimental, as reações ocorridas com o AHPLUS apresentaram uma inversão do quadro inflamatório, tornando-se suave a moderada em sua quase maioria (tabela 2 e 3). Pode ser observada uma resolução e busca de reparo, com deposição de tecido conjuntivo ou ósseo, chegando, por vezes, a estar quase em contato com o material.(fig.5 A, com maior aumento em 5C e D). Foi verificada a integração do implante com o tecido ósseo circundante e, neoformação da cortical vestibular sobre o implante, sepultando-o inteiramente. Em alguns casos, permaneceu uma estreita faixa de tecido conjuntivo, interpondo-se entre o material implantado e o tecido ósseo neoformado.(Fig.5B). Presença, ainda, de células gigantes tipo corpo estranho, mas sem a presença de processo inflamatório

expressivo.(Fig. 5E)

Na avaliação final, aos 90 dias as reações frente ao Epiphany continuaram como aos 30 dias, mas com presença de tecido ósseo mais evidente e, quando não em contato direto com o material, apresentou-se separado deste por uma fina camada de tecido conjuntivo, organizado e sem apresentar células do processo inflamatório.(Fig. 7B, C e D).

Fato encontrado aos 30 dias e que também chama a atenção é a presença de grande quantidade de material disperso à distância, apresentando-se com um formato esferoidal, birrefringente, de tonalidade mais clara que a apresentada pelo material no interior do copo. Apresenta-se com a tonalidade do material na interface implante/tecido ósseo (Fig. 7B), mais homogêneo, sem os cristais observados na intimidade do material, o que lhe confere uma tonalidade escura.

As reações frente ao MTA apresentaram um padrão geral de tecido ósseo neoformado, dispondo-se em íntimo contato com o material. (fig. 08A), denotando o aspecto de plena integração, com um excelente grau de compatibilidade óssea. Em nenhum dos implantes avaliados verificou-se reação inflamatória significativa e, quando presentes, macrófagos e células gigantes apareceram nas regiões periféricas do tecido neoformado, na intimidade do copo de teflon. Observa-se na fig 08 C, com maior aumento em D a presença de osteoblastos com aspecto de integridade onde pode ser

visto o material testado intimamente aderido ao osso. A tabela 05 demonstra o grau da resposta inflamatória e a 02 indica a avaliação histológica deste implante, aos 30 e 90 dias.

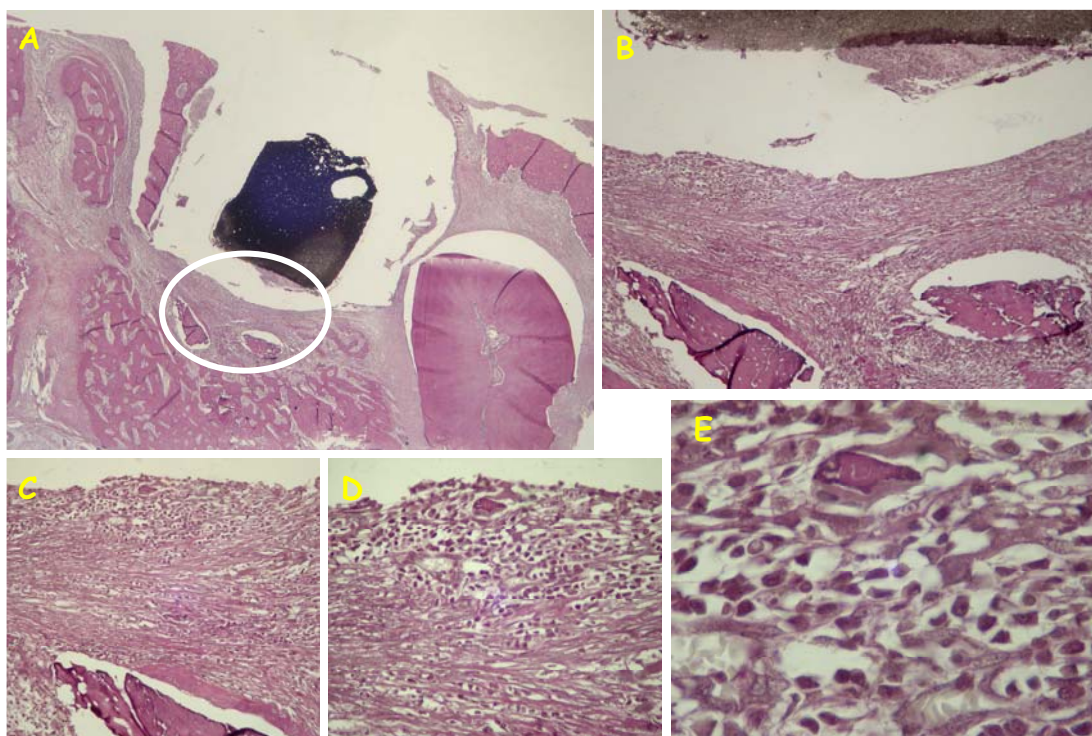


FIGURA 05: AHPLUS 30 dias

Visão panorâmica da área do implante (copo de teflon com o material teste) no tecido ósseo da cobaia. 20x

Ampliação de A (círculo) grande área de tecido conjuntivo separando material implantado do osso. Pode ser verificada a presença de fragmentos de tecido ósseo envoltos por processo inflamatório. 40x

C e D - Aumento da fig. B, o tecido de granulação, com predominância de linfócitos e células gigantes do tipo corpo estranho.

Detalhe, em grande aumento, infiltrado inflamatório do tipo crônico e fragmento de tecido ósseo. 200x

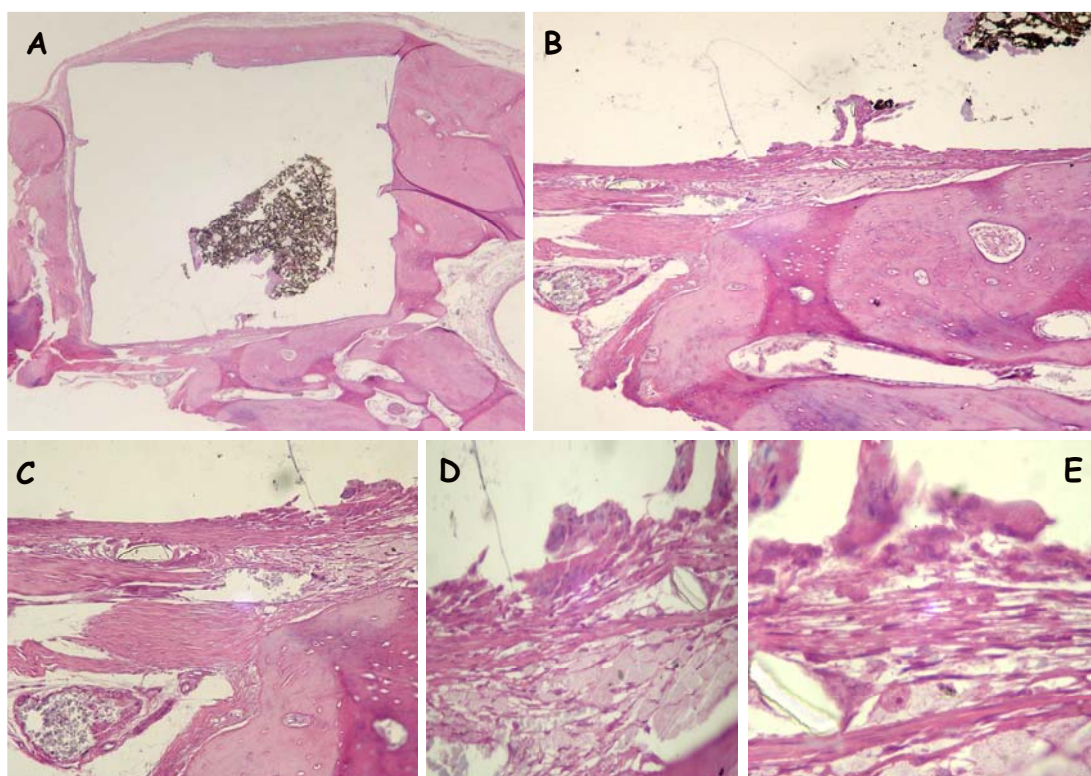


FIGURA 06: AHPLUS 90 dias

- A- Visão geral do implante, Integração do copo de teflon com o tecido ósseo circundante. Resolução do processo inflamatório severo, com neoformação óssea. Relação de contato do osso com o material testado. 20x
- B- Aumento da interface material/osso, presença de delgada camada de tecido conjuntivo, interposta entre o material experimentado e o osso e, crescimento deste justapondo-se ao material. 40x
- C- Aumento de B, presença de cápsula fibrosa interpondo-se entre o tecido ósseo e o material implantado.
- D e E- Maiores aumentos a presença de células inflamatórias crônicas como macrófagos e células gigantes do tipo corpo estranho, junto ao tecido fibroso. 100x, 200x.

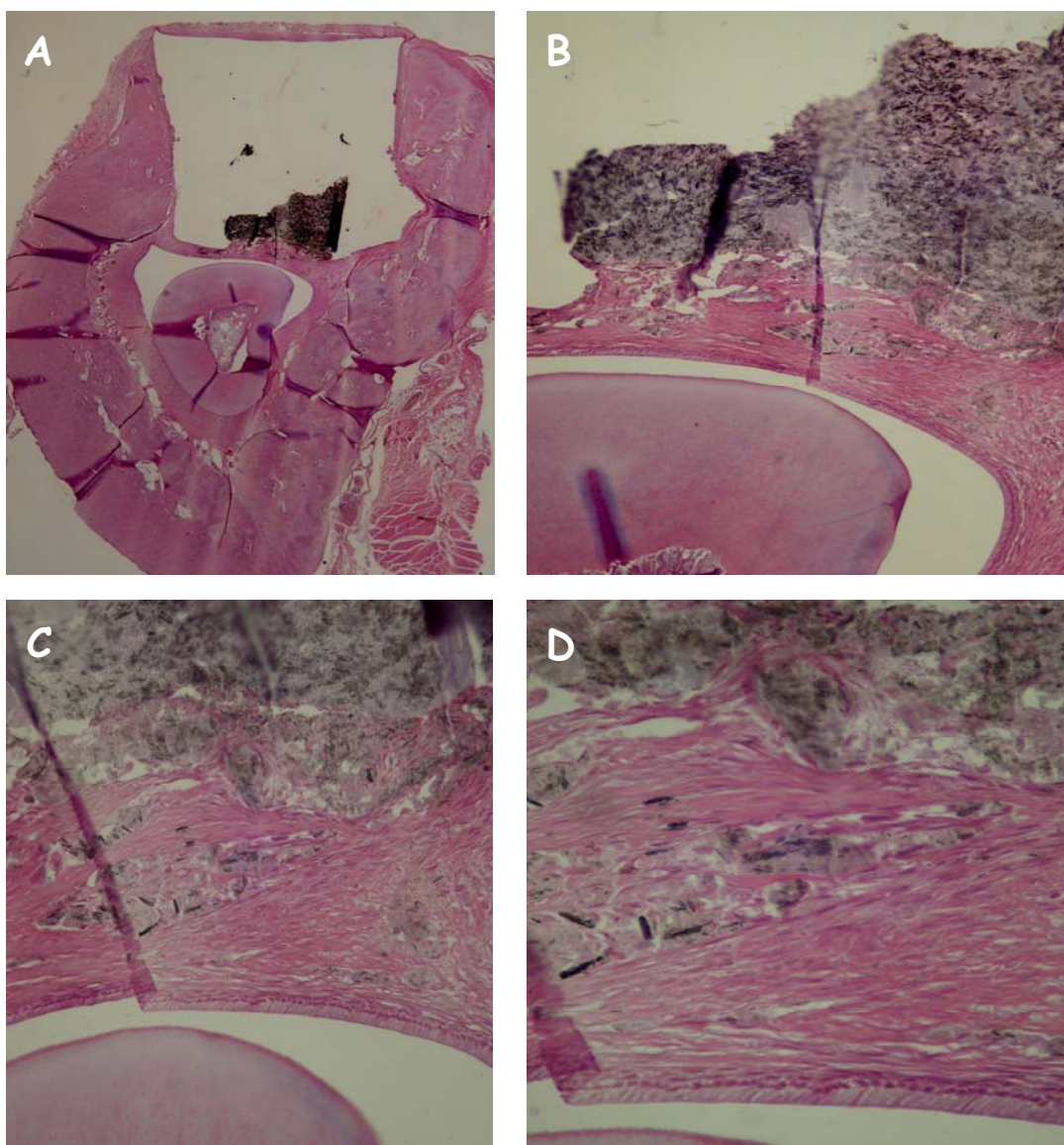


FIGURA 07: EPIPANY 30 dias

- A- Visão geral do implante, aspecto de integração deste com o tecido ósseo e a proximidade com o espaço periodontal. 20x.
- B- Aumento da área da interface osso/material espessa faixa de tecido conjuntivo interpondo-se entre estes com presença de material disperso. 40x.
- C- Detalhe da figura B camada de tecido conjuntivo organizado, sem presença evidente de inflamação. Material permeando o tecido. 100x.
- D- Magnificação de C ausência de processo inflamatório, podendo ser observado apenas tecido fibroso com material disperso e camada de ameloblastos íntegra mais abaixo. 200x

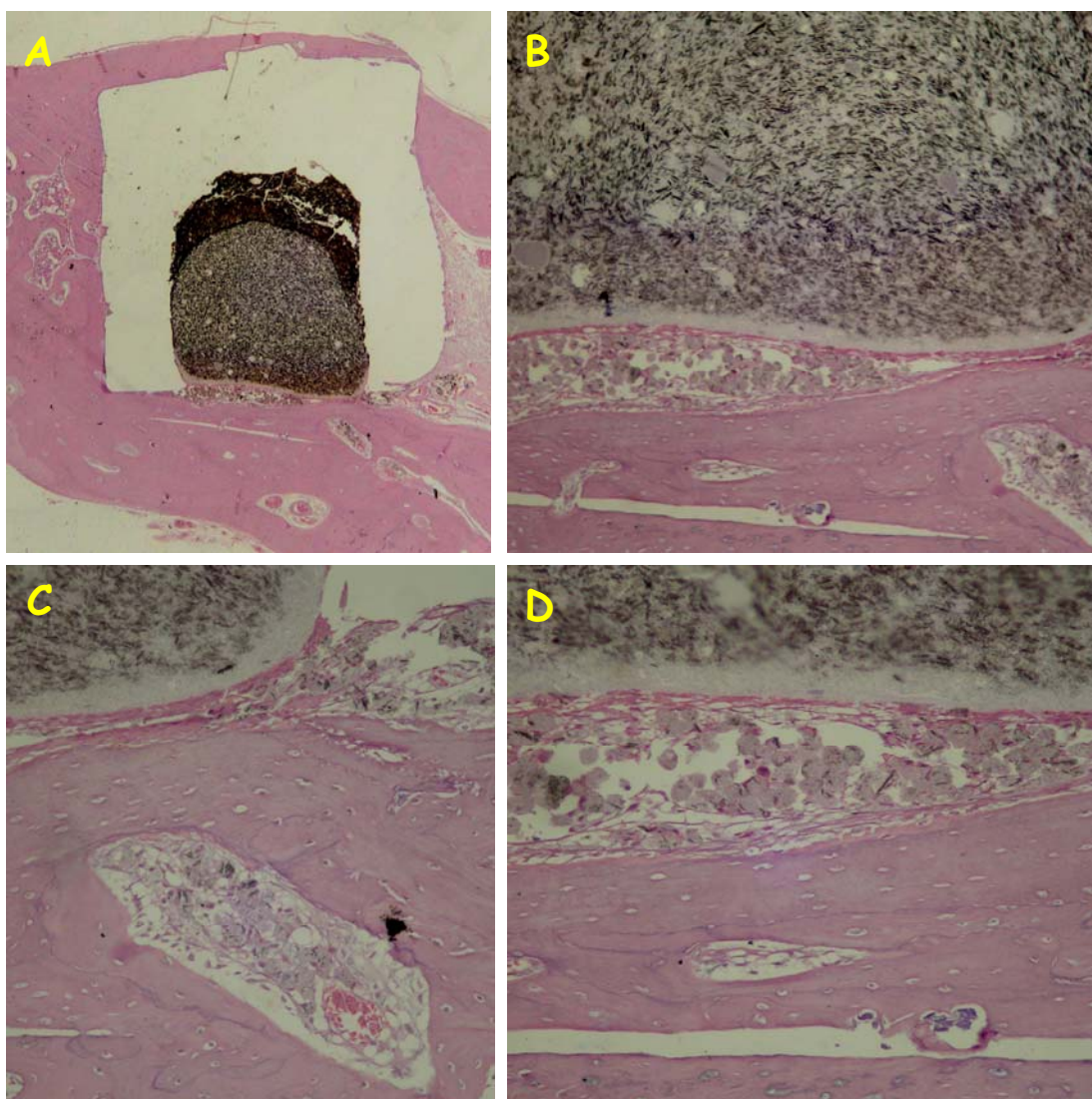


FIGURA 08: EPIPHANY 90 dias

- A- Visão geral do implante a integração deste ao osso adjacente e permanência do material testado em íntimo contato com o osso. 20x
- B- Ampliação interface osso/material implantado crescimento de tecido ósseo junto ao material testado. Neoformação óssea evoluindo para um padrão estrutural semelhante ao osso normal, com presença de diversos espaços medulares comuns nesta região.
- C e D- Detalhe da área de interface material/tecido, tênue camada fibrosa entre estes. Presença de material com forma esferoidal nos espaços medulares. 100x e 200x respectivamente.

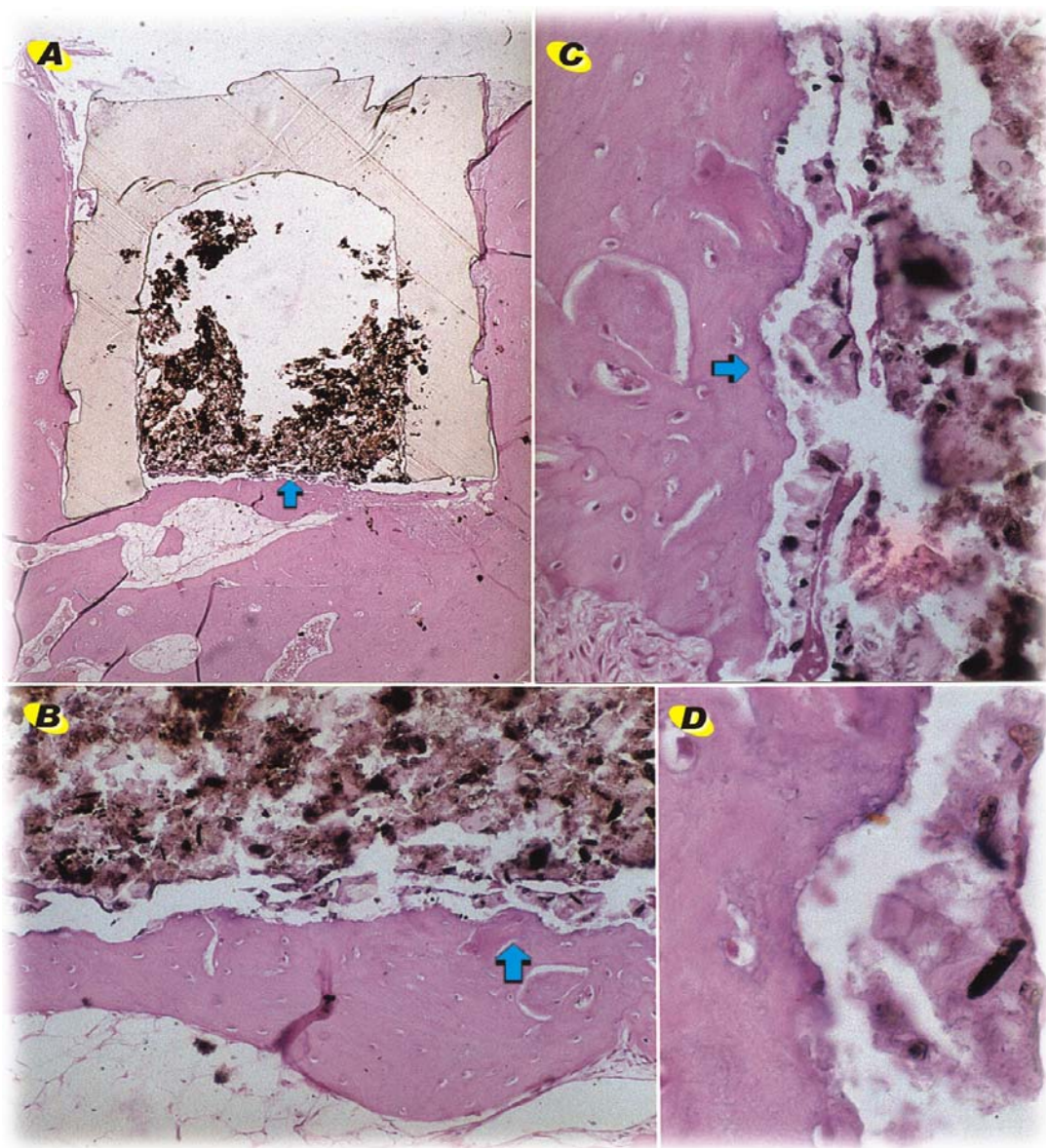


FIGURA 09: MTA 30 DIAS

A- Visão panorâmica do implante Teflon/MTA no tecido ósseo mandibular da cobaia. Aspecto de integração implante/osso. 40X

B - Destaque da interface material testado/tecido ósseo (seta azul em A). Relação de contato osso/material. Aspecto de normalidade sem evidências de processo ou células inflamatórias. 200X

C- Detalhe de B(região da seta azul), imagem verticalizada. Tecido ósseo com características de integridade justaposto ao material testado. Ausência de resposta inflamatória. 400X

D- Ampliação de C(seta azul) íntima relação osso/material. 1000X

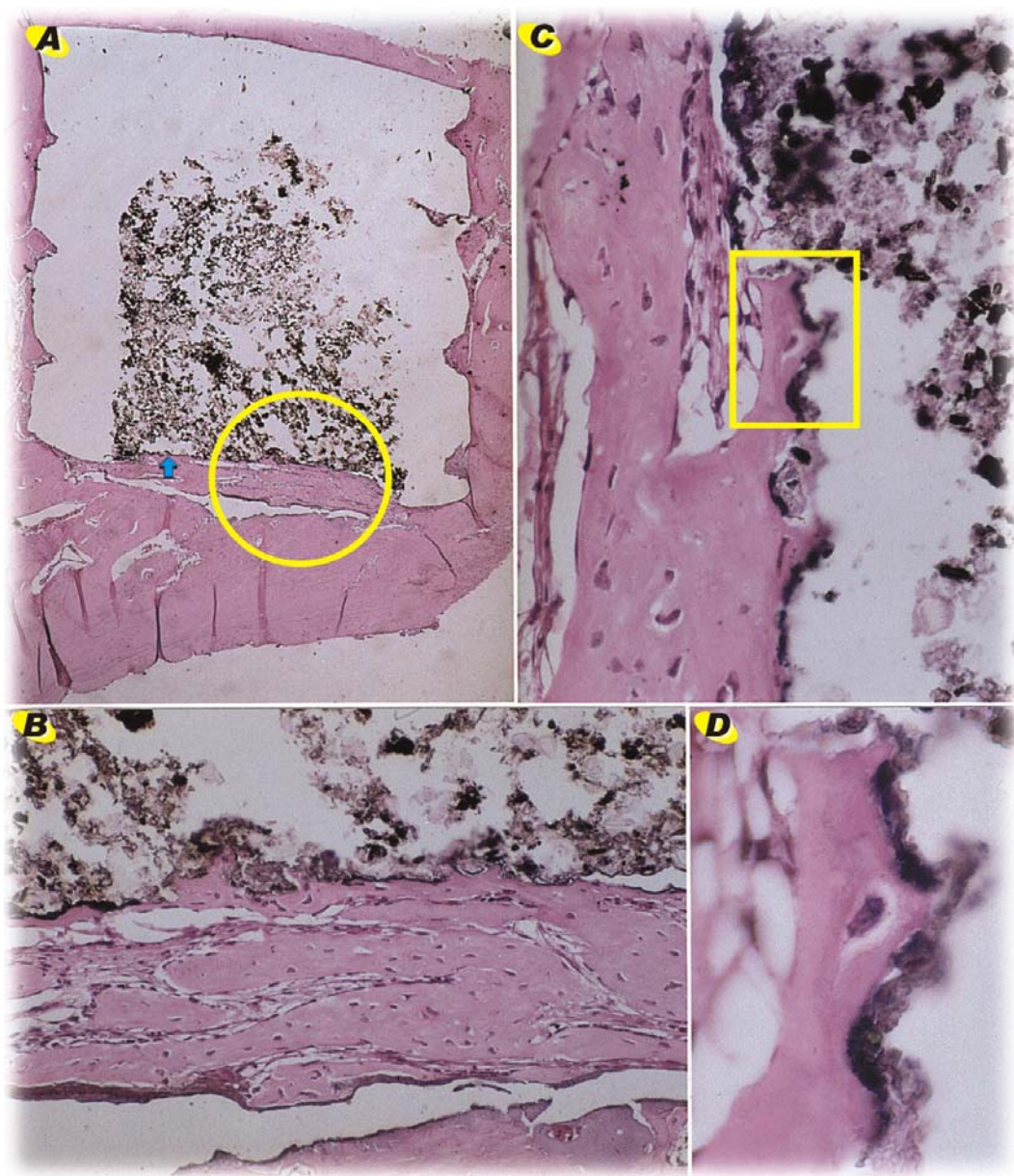


FIGURA 10: MTA 90 DIAS

- A- Visão geral do implante: verifica a total inclusão deste ao osso. 40X
- B - Magnificação da interface material testado/osso neoformado(círculo em A). Aspecto de integridade, sem presença de processo inflamatório e união do osso ao material. 200X
- C- Ampliação da região de A(seta azul), mostrando a íntima relação do material com o osso. Presença de espaço medular neoformado, sem evidências de resposta inflamatória de qualquer magnitude. 400X
- D- Detalhe de C(retângulo) mostrando osteoblasto com aspecto morfológico normal com aposição de osso junto às irregularidades do material, de maneira justaposta. 1000X

DISCUSSÃO

Desenvolvemos o presente trabalho, reportando-nos a uma metodologia definida e aceita mundialmente, a fim de investigar o potencial de biocompatibilidade de cimentos obturadores endodônticos. Através da análise qualitativa da resposta inflamatória aos materiais testados foi possível definir, segundo os critérios adotados o potencial de irritação destes fármacos.

Os resultados empregando esta metodologia vêm, às vezes confrontar os obtidos por diversos autores que, utilizando metodologias diferentes acabam por definirem padrões de reação inflamatória de acordo com critérios particulares de observação. Para que pudéssemos oferecer resultados reproduzíveis e que pudessem ser comparados por outros investigadores buscamos a padronização e a uniformização dos testes segundo uma metodologia definida pela comunidade científica internacional. (F.D.I., 1980; A.D.A./A.N.S.I, 1982).

A obtenção dos resultados de qualquer investigação pode ser influenciada sobremaneira pelos métodos utilizados. A técnica para a utilização de qualquer material é tão importante quanto o próprio material, pelo simples fato de que uma técnica inferior pode arruinar ou danificar um material superior (PASCON, 1999).

Buscamos testar os cimentos, manipulando-os como especifica o fabricante e introduzindo-os de imediato no tecido ósseo do animal. Assim,

referendamos os testes biológicos através de implantes intra-ósseos em cobaias (guinea pig) pautados no rigor técnico, como determina a Federação Dentária Internacional, minimizando as interferências pessoais. Autores como (BHAMBAHANI & BOLANOS, 1993, KOLOKOURIS et al, 1998, PASCON 1999, SOUSA 2000; PASCON et al 2001, SOUSA et al, 2004, etc) também reportam que os materiais pesquisados devem ser manipulados e aplicados nos testes laboratoriais exatamente como são recomendados pelos fabricantes e utilizados na clínica diária. Considerando que os cimentos de obturação do conduto radicular são preparados e introduzidos no canal na sua forma pastosa e, somente após sua introdução a presa é completada, o método para testá-lo deve permitir a fiel reprodução dessa condição.

O surgimento de materiais odontológicos no mercado ocorre, algumas vezes, antes das comprovações científicas aceitáveis, e provenientes de pesquisas referendadas. Assim, sempre nos suscita a necessidade da comprovação de seus aspectos biológicos segundo parâmetros definidos por organismos reguladores, para que possamos ter a tranqüilidade de referendá-los ou não.

Observa-se, pela análise de alguns trabalhos publicados na literatura, que quando os testes são padronizados, mesmo realizados por autores e laboratórios distintos, os resultados podem ser comparados e correlacionados (OLSSON et al 1981, PASCON et al., 1991, 1999,

BARBOSA et al., 1993; TORABINEJAD et al 1998, SOUSA 2000, SOUSA et al 2001, SOUSA et al 2004).

Os resultados verificados em nosso experimento vem confirmar os achados de outros investigadores, (LEONARDO et al 1988, PASCON et al 1991, 2001; SOUSA 2000, SOUSA et al 2001, 2004, ZAFALON, 2004, CHITA, 2004), ao afirmarem que a busca por um material obturador totalmente biocompatível se faz necessária, pois os materiais até então apresentam reações do tipo corpo estranho com maior ou menor intensidade, fora dos padrões definidos pela Federação Dentária Internacional. Quando se verifica a presença de células inflamatórias crônicas, principalmente células gigantes de corpo estranho em contato direto com o material, estas denunciam a permanência de uma característica tóxica o que, histopatologicamente, é definido como uma reação inflamatória do tipo corpo estranho demonstrando que o material não é aceitável dentro dos tecidos.

A análise dos implantes intra-ósseos, demonstrados na Tabela 1, mostra que as reações inflamatórias aos materiais variaram de suave a severa. Houve a tendência de diminuição da resposta inflamatória nos tempos de observação mais longos, apresentando a formação e uma espessa cápsula fobrosa, presença de material disperso à distância, mas sem os fenômenos inflamatórios expressivos, principalmente na avaliação do Epiphany. A formação de uma “cápsula” fibrosa entre o material

implantado e o tecido ósseo, sem infiltrado inflamatório expressivo, que tem sido considerada como critério de aceitabilidade do material (F.D.I., 1980; OLSSON et al., 1981), mas a presença de células da inflamação crônica, junto ao material, em qualquer tempo de observação, denuncia o caráter tóxico do mesmo.

(LEONARDO et al (2003)), realizando investigação, “in vivo”, em cães afirmam que o AHPLUS apresentou um vedamento apical nas obturações endodônticas realizadas ocorrendo formação de tecido duro com ausência de inflamação na região periapical. Este dado de aceitação biológica é conflitante com nossos achados, apesar dos testes não terem sido realizados com mesma metodologia, fato já discutido anteriormente, mas que voltamos a frizar dado a relevância, pois não se pode comparar resultados com metodologias distintas.

Dos cimentos testados neste experimento, o Epiphany, material resinoso com presa dual, cria um novo conceito de material obturador endodôntico, pela sua proposta em formar um monobloco com adesão dentinária, como a ocorrida nos materiais restauradores resinosos, mas por ser um produto novo, carece de mais trabalhos de investigação. Apresentou reações tissulares favoráveis, semelhantes às resinas fotoativadas, demonstradas no trabalho de SOUSA (2000), onde este investigou a biocompatibilidade da resina fotopolimerizável Z100 em implantes intra-ósseos. O mesmo não ocorreu com o AHplus pois, apesar deste apresentar

uma diminuição expressiva na intensidade da resposta inflamatória aos 90 dias, apresentou reação severa aos 30, o que o define como não aceitável do ponto de vista biológico.

O cimento AHPlus, presente no mercado mundial, apesar de não apresentar características de biocompatibilidade, segundo os critérios da FDI, tem sido aceito como um bom material obturador por possuir boas características físicas. Tem sido vastamente estudado desde sua primeira formulação quando era designado de AH26. Hoje é praticamente utilizado como referência nos diversos trabalhos de biocompatibilidade, quer sejam “*in vitro*” como “*in vivo*” em diversas modalidades experimentais.(MOLLOY et al, 1992, KOULAOUZIDOU et al 1998, LEYHAUSEN, 1999, PASCON, 1999, MILETIC et al, 2000, 2005, AZAR et al 2000, COHEN et al 2000, LEONARDO, et al 2003, SHIPPER et al 2004, 2005, TEIXEIRA et al 2004). Na presente investigação e de maneira similar a estes trabalhos, foi possível definir este cimento como não aceitável, apesar dele apresentar uma redução expressiva no seu potencial de irritação aos 90 dias de observação.

De maneira contrária, o Epiphany não apresentou características de aceitação biológica no dois períodos avaliados, mas é um material recentemente lançado no mercado odontológico e, não foram encontradas referências expressivas quanto a sua biocompatibilidade, na literatura especializada, necessitando então de maiores investigações, tanto quanto aos aspectos biológicos quanto físico-químicos. Assim, o presente trabalho

parece ser o primeiro desenvolvido segundo metodologia da FDI, para testar tal material.

As interfaces tecido ósseo/paredes laterais dos tubos de Teflon[®] serviram como excelente controle negativo. As áreas que foram examinadas nos cortes histológicos apresentaram-se, de maneira geral, livres de inflamação, indicando que as reações na entrada dos tubos estavam relacionadas com a toxicidade dos materiais e demonstraram a compatibilidade do Teflon[®] (Fig. 4A, 5A, 6A, 7A). Estas áreas são referendadas como controle, dado a excelente biocompatibilidade que possui o teflon quando implantado em subcutâneo ou intra-ósseo, sendo assim definido como critério nas normativas dos testes.

Suportados por uma avaliação cuidadosa dos testes, desenvolvimento constante da metodologia proposta, verificação da literatura pertinente, afirmamos que dos materiais testados o AHPlus apresentou reações inflamatórias expressando a sua não aceitação como biocompatível e o Epiphany apresentou características de biocompatibilidade.

O estudo das propriedades físicas e biológicas dos materiais odontológicos, com especial ênfase para aqueles que permanecerão em contato com osso por longo período de tempo tem, na sua

biocompatibilidade, um dos seus principais pontos de referência para sua aplicação clínica. O tratamento endodôntico visa a completa remoção do material contido no sistema de canais radiculares, contaminado ou não, e a interrupção do contato entre os agentes irritantes físicos e/ou bacterianos, oriundos ou não desse sistema de canais, que possam agredir a região perirradicular. Busca-se, então, após a remoção e desinfecção, a obliteração com um material biocompatível. O uso de um material obturador irritante atua contra os princípios biológicos, desfavorecendo a cicatrização.

Quando indicados como obturadores endodônticos, além dos testes preliminares necessários, os materiais devem ter investigadas suas características de biocompatibilidade (TORABINEJAD & FORD, 1996).

O teste secundário de implante em tecido ósseo recomendado pela FDI, através de seu Technical Report # 9, permite ao investigador testar o material utilizando-o da mesma maneira como é usado na clínica, obedecendo as recomendações de manuseio indicadas pelo fabricante.

Entretanto, devemos atentar para as críticas de OLSSON et al. (1981b), ao denunciarem o fato de que uma cavidade óssea artificial usada para implante intra-ósseo é diferente do tecido de suporte e do ligamento alveolar humano, a despeito das importantes informações que este teste pode oferecer. Este tipo de crítica é válido, pois permite discussões em relação ao teste de uso e sua aplicabilidade na clínica.

Deve ficar claro que não se pretendeu nem se preconizou que os implantes mimetizassem as situações clínicas, mas sim, apenas as investigações indicadas na proposição evitando extrapolações. Os resultados aqui obtidos mostram a reação do tecido ósseo de cobaias aos materiais testados, frente a um modelo possível, compreendendo uma das etapas de testes indicados pela Federação Dentária Internacional.

O propósito deste trabalho foi o de comparar a reação do tecido ósseo quando nele se implantam materiais odontológicos, contribuindo para a busca de um material próprio para a utilização em obturações endodônticas e retrógrados, quando da execução de cirurgias pararendodônticas, com as características de biocompatibilidade aos tecidos vivos da região perirradicular. A falta de padronização dos métodos de pesquisa e de consenso entre pesquisadores torna essa tarefa difícil e trabalhosa. Os métodos que foram utilizados neste estudo são recomendados por Organizações que buscam a uniformização e padronização dos testes, possibilitando a comparação dos resultados, sendo os mesmos amplamente aceitos pela comunidade científica internacional (F.D.I., 1980; A.D.A. /A.N.S. I., 1982).

Pode ser observado, pela análise de alguns trabalhos publicados na literatura, que quando os testes são padronizados, mesmo realizados por autores e laboratórios distintos, os resultados podem ser comparados e se confirmam (SPÄNGBERG, 1973; RODRIGUES et al., 1975; PASCON et al.,

1987a, 1987b; PASCON & LANGELAND, 1989; ANDREANA et al., 1989; BARBOSA et al. 1993).

Neste estudo buscou-se seguir as recomendações dos documentos da FDI (1980) e ADA/ANSI (1982).

Considerando, no entanto, que as reações tissulares aos materiais tóxicos são em três dimensões e os cortes histológicos são em duas, somente os cortes semi-seriados dão a verdadeira informação da sua intensidade. Nesses tipos de teste – implante intra-ósseo – as reações observadas dependem do correto alinhamento dos espécimes durante o processamento, e somente os cortes que passarem pelo centro da área de reação inflamatória (aqueles mostrando a reação mais severa) deveriam ser comparados, de material para material. A falta de tais cortes requer que o experimento seja repetido até que um número adequado de cortes esteja disponível. Isto significa que os cortes selecionados ao acaso, como são recomendados nos estudos morfométricos, não podem ser aceitos para esse tipo de pesquisa (WEIBEL, 1979; WARFVINGE, 1986).

O implante intra-ósseo de copos de Teflon, sugerido por (SPÄNGBERG (1969)), tem sido aceito e utilizado largamente na literatura, mas com algumas variações. O autor sugeriu, originalmente, a implantação de dois materiais diferentes; um em cada lado da sínfise mandibular do animal, para que se pudesse fazer comparação da resposta inflamatória de cada um deles. Na avaliação dos resultados ele descreve: “A diferença das

respostas foi avaliada, em duas ocasiões diferentes, e classificada em moderadamente severa (+) e severa (++); na ausência de diferenças entre as inflamações, com o símbolo zero (0).

Na presente pesquisa as reações ao longo da superfície do copo de teflon serviram como controle para as reações oriundas do trauma cirúrgico e para caracterizar o grau de reação inflamatória, aos materiais testados, partindo-se da premissa de que o teflon é um material de pouca capacidade antigênica. Nos implantes efetuados, nos dois tempos experimentais foi possível a verificação de uma neoformação óssea junto à superfície externa do copo, podendo ser observado o preenchimento das ranhuras laterais destes com osso, indicando o pequeno grau de estimulação de respostas inflamatórias. Quando não ocorreu o contato direto com osso, uma cápsula fibrosa de pequena espessura mostrou-se presente, entretanto, sem a presença de infiltrado inflamatório significativo.

Achados histológicos interessantes puderam ser verificados quando das reações do tecido ósseo ao Mineral Trióxido Agregado. Pode ser observado nas figuras 08 e 09 correspondentes aos tempos 30 e 90 dias respectivamente, aspecto excelente de biocompatibilidade. Rotineiramente, em todos os espécimes avaliados, foi possível a observação de uma íntima relação deste material com o tecido ósseo reorganizado. Pode ser verificado na tabela 01 que as reações inflamatórias apresentaram-se como ausentes ou suaves e, como ilustrado na figura 08D, foi possível observar tecido

ósseo novo, com presença de osteoblasto sem nenhuma separação do material implantado, por tecido conjuntivo fibroso.

Estes resultados são compatíveis com os de (TORABINEJAD (1997)), quando avaliou a biocompatibilidade deste produto usando-o em obturações retrógradas em dentes de macacos e comprovando o seu alto grau de aceitação biológica. De modo semelhante ao realizado por nós, (TORABINEJAD et al. (1998)), também testou este material através de implantes intra-ósseos, em cobaias.(Guinea Pigs). Apesar deste autor não afirmar que se baseou nos critérios definidos pela FDI, Technical Report n#9, seus achados são coincidentes com os da presente investigação.

A literatura que aborda as pesquisas deste material, produzida por seu autor, como a facilidade de manuseio e possuir reação de presa com a água (TORABINEJAD et al. (1993)), composição química (TORABINEJAD et al. (1995d)), capacidade de selamento (TORABINEJAD et al. (1994)), infiltração marginal (TORABINEJAD et al. (1995e)), adaptação marginal, através de microscopia eletrônica de varredura (TORABINEJAD et al. (1995g)), citotoxicidade (TORABINEJAD et al. (1995f)), biocompatibilidade em osso (TORABINEJAD et al. (1997,1998)), apontam-no como um material extremamente promissor para o uso na clínica odontológica, e especialmente na endodontia, porém não como cimento.

(BERNABÉ E HOLLAND (1999)), e (HOLLAND (1999)) realizaram trabalhos comparando as propriedades do MTA com o hidróxido de cálcio, pois observaram algumas similaridades entre elas, principalmente com respeito à deposição de tecido duro. Com o propósito de desvendar o mecanismo de ação deste material, até então desconhecido, eles desenvolveram um estudo em tecido conjuntivo de ratos, implantando tubos de dentina preenchidos com MTA ou hidróxido de cálcio. Realizaram avaliações à luz da microscopia polarizada e reações histoquímicas. Este experimento demonstrou que os resultados obtidos com o hidróxido de cálcio foram iguais ao obtidos com o MTA. Notaram granulações bi-refringentes à luz polarizada, não só na intimidade dos tecidos como no interior dos túbulos dentinários. Essas granulações são cristais de calcita, originárias da reação do cálcio do hidróxido de cálcio com o dióxido de carbono do tecido. Formulam, então, a seguinte questão: porque este mesmo fenômeno ocorreu com o MTA se ele não contém hidróxido de cálcio em sua formulação? Relatam que a afirmação mais provável é a de que ele passaria a conter o óxido de cálcio, após sua presa, o qual reagiria com os fluídos do tecido formando o hidróxido de cálcio, concluindo que é possível que o mecanismo de ação do MTA, estimulando deposição de tecido duro, seja semelhante ao produzido pelo hidróxido de cálcio. Ou seja, há deposição de granulações de calcita, ao redor das quais há grande condensação de fibronectina o que proporciona adesão e diferenciação celular, com a posterior deposição de tecido duro.(HOLLAND et al., 1999a)

Assim, os resultados experimentais de nosso trabalho vêm se somar aos achados dos demais investigadores, suportando a teoria de que, biologicamente, segundo os critérios experimentais definidos, este material apresenta excelente comportamento quando em contato com o tecido ósseo.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho permitiram concluir que:

Segundo o modelo experimental proposto os cimentos Epiphany e MTA apresentaram características de biocompatibilidade nos dois períodos avaliados, enquanto que o AHplus promoveu reação inflamatória severa no primeiro período e moderada a suave no segundo.

O nível de toxicidade dos materiais testados diminuiu ao longo dos períodos avaliados.

REFERÊNCIAS

A.D. A., AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. **Remédios dentários oficiais**. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1963, p. 213-214, Apud BERNABÉ, P.F.E. **Estudo histopatológico realizado em dentes de cães com lesão periapical após apicectomia e tratamento endodôntico via retrógrada. Influência do nível da obturação e do material obturador**. Araçatuba, 1994. 352p. Tese (livre docência)-Faculdade de Odontologia.Universidade Estadual Paulista.

ANDREANA, S.; PASCON, E. A.; LANGELAND, K. Bone Tissue Response to Hemofibrine. **J. Dent. Res.** v. 68, p. 381, 1989, /Resumo/.

ANSI/ADA **Specification #41 for Biological Evaluation of Materials**. Approved January 4, 1982.

AZAR, N.G.; HEIDARI, M.; BAHRAMI, Z.S.; SHOKRI, F. In vitro cytotoxicity of a new epoxy resin root canal sealers. **J. of Endod.** V.26, n.8, p.462-465, Aug. 2000

BARBOSA, S.V.; ARAKI, K.; SPÄNGBERG, L. S. Cytotoxicity of some modified root canal sealers and their leachable components. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v.75, p.357-61, 1993.

BHAMBAHANI, S.M.; BOLANOS, O.R. Tissue reactions to endodontic materials implanted in the mandibles of guinea pigs. **Oral Surg., Oral Med. Oral Pathol.**, v. 76, p. 493-501, 1993.

CHITA, J. J. Avaliação da resposta inflamatória em tecido subcutâneo de cobaias “guinea pig” à cimentos endodônticos. (Dissertação de Mestrado), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 70p, il, 2004.

COHEN, B.I.; PAGNILLO, M.K.; MUSIKANT, B.L.; DEUTSCH, A.S. Na in vitro study of the cytotoxicity of two root canals sealers. J. Endod. V.26, n.4, p.228-229, Apr.2000.

F.D.I.- **Technical Report #9**, Langeland, K.; Cotton, W.R. Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. 1980.

GROSSMAN, L.I. **Endodontic Practice**. 10^a. ed., Philadelphia, Lea & Febiger, 1981.

KOLOKOURIS, I.; ECONOMIDES, N.; BELTES, P.; VLEMMAS, I.- In vitro comparison of the biocompatibility of two root canal sealers implanted into the subcutaneous connective tissue of rats. **J. Endod**. V.24, n.2, p.82-85, feb.1998.

KOULAOUZIDOU, E.A.; PAPAISIS, K.T.; BELTES, P.; GEROMICHALOS; KORTSARIS, A.H. Cytotoxicity of three resin based root canal sealers an in vitro evaluation. **Endod Dent Traumatol**, v.14, p.182-185, 1998.

LEONARDO, M.R.; ALMEIDA, W.A. SILVA, L.A.B.; UTRILLA, L.S.- Histological evaluation of the response of apical tissues to glass ionomer and zinc oxide-eugenol based sealers in dogs teeth after root canal treatment. **Endod. Dent. Traumatol**, v.14, p.257-261, 1998.

LEONARDO, M.R.; ASSED, L.B.S.; TANOMARO FILHO, M.; SILVA, R.S. – Release of formaldehyde by 4 endodontic sealers. **Oral Surg Oral Med. Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.88, n.2,p.221-225, aug. 1999.

LEONARDO, M.R.; SALGADO, A.A.M.; ASSED, L.B.S.; TANOMARO FILHO. Apical and periapical reappear of dog's teeth with periapical lesions after endodontic treatment with different root canal sealers. **Pesqui Odontol Bras** v.17, n.1, p.69-74, 2003.

LEYHAUSEN, G.; HEIL, J.; REIFFERSCHIED, G.; WALDMANN, P.; GEURTSSEN, W. Genotoxicity and cytotoxicity of the epoxy resin-based root canal sealer AHPLUS. **J. Endod.** v.25, n.2, p. 109-113, feb. 1999.

MILETIC, I.; ANIC, I.; KARLOVIC, Z.; MARSAN, T.; PEZELI-RIBARIC, S.; OSMAC, M. Cytotoxic effect of four root filling materials. **Endod Dent Traumatol**, v.16, p.287-290, 2000.

MILETIC, I.; DEVCIC, N.; ANIC, I.; BORCIC, J.; KARLOVIC, Z.; OSMAC, M. The cytotoxicity of RoekoSeal and AHPlus compared during different setting periods. **J. Endod.** v.31, n.4, p.307-309, apr.2005.

MOLLOY, D.; GOLDMAN, M.; WHITE, R.R.; KABAMI, S. Comparative tissue tolerance of a new endodontic sealer. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v.73, p.490-93, 1992.

OLSSON, B.; SLIWKOWSKI, A.; LANGELAND, K. Intraosseous implantation for biological evaluation of endodontic materials. **J. of Endod.**, v.7, p.253-65, 1981.

PASCON, E.A.; LANGELAND, K. Cytotoxicity of a new endodontic sealer. **J. Dent. Res.**, v.68, p.244, 1989. Resumo

PASCON, E.A.; LEONARDO, M.R.; SAFAVI, K.E.; LANGELAND, K. Tissue Reaction to Endodontic Materials: Methods, Criteria, Assessment, and Observations. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v.72, p.222-37, 1991.

PASCON, E.A.; ARRIOLA, A.; RICUCCI, D.; LANGELAND, K. Terapia endodontica prática. **Rev. ABO Nac.** v.5, p.233-44, 1997.

PASCON, E.A. - **Projeto Biocompatibilidade dos materiais Endodônticos: Biocompatibilidade da resina poliuretana derivada da mamona.** Ribeirão Preto, 1999.167p.Tese (Doutorado).Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, USP.

PASCON,E.A.; SOUSA, C.J.A; LANGELAND, K.- Biocompatibility of endodontic materials: Guinea pig bony tissue response to polyurethane resine derived from castor bean oil. **J. Dent. Res.**, v.80, p.144, abstract 869, 2001.

RICUCCI, D.; LANGELAND, K. Apical limit of root canal instrumentation and obturation. Part 2. A histological study. **Int. Dent. J.** v.31, p. 394-409, 1998.

SHIPPER, G.; ORSTAVIK, D.; TEIXEIRA, F.B.; TROPE, M. Na evaluation of microbial leakage in roots filled with a thermoplastic synthetic polymer-based root canal filling material (Resilon). **J. Endod.** v.30, n.5, p.342-347, may 2004.

SHIPPER, G.; TEIXEIRA, F.B.; ARNOLD, R.R.; TROPE, M. Periapical inflammation after coronal microbial inoculation of dog roots filled with gutta-percha or resilon. **J. Endod.** v.31, n.2, p.91-96, feb 2005.

SOUSA, C.J.A.- **Avaliação histológica da biocompatibilidade de materiais indicados para retro-obturações em cirurgias pararendodônticas, através de implantes intra-ósseo, em guinea pig, segundo critérios estabelecidos pela FDI.** Ribeirão Preto, 2000, 138p, il, Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo, 138p., il, 2000.

SOUSA, C.J.A.; VERSIANI, M.A.; PASCON, E.A.; LANGELAND, K.- Biocompatibility of endodontic materials: Guinea pig bony tissue response to retrógrade obturation materials. **J. Dent. Res.**, v.80, p.144, abstract 868, 2001.

SOUSA, C.J.A.; LOYOLA A.M.; VERSIANI, M.A.; BIFFI, J.C.G.; OLIVEIRA, R.P.; PASCON, E.A.- A comparative histological evaluation of the biocompatibility of materials used in apical surgery. **Int. Endod. J.**, 37, 1-11, 2004.

SPÄNGBERG, L. S. - Biologic effects of root canal filling materials. **Odontol. Revy**, v.20, p.123-132, 133-145, 283-287, 289-299, 427-436, 1969.

TEIXEIRA, F.B.; TEIXEIRA, E.C.N.; THOMPSON, J.Y.; TROPE, M. Fracture resistance of roots endodontically treated with a new resin filling material. **JADA**, v.135, p.646-651, may 2004.

TORABINEJAD, M.; FORD, T.R.P.; ABEDI, H.R.; KARIYAWASAM, S.P.; TANG, H.-
Tissue Reaction to implanted root-end filling materials in the tibia and mandible of
guinea pigs. **J. of Endod.**, v.24, n.7, july 1998.

ZAFALON, E. J. Avaliação das propriedades físicas e biológicas dos cimentos
EndoRez e Endomethazone: Reação do tecido subcutâneo em *Calomys collosus* e
selamento apical em dentes humanos. (Dissertação de Mestrado). Universidade
Federal de Uberlândia. 100p. il, 2004.

SUMMARY

Histological Evaluation of the inflammatory response to **endodontic** filling materials.

Dentistry in our days has been working in an incessant manner so that its results be well-known. New techniques, new materials, ultimately, even if the indexes of dental decay still reach a number that characterize risk. Not only the evolution of the disease decay, but also the **iatrogenic** make it necessary to have **endodôntic** treatment that consists in the removal of all **necrosis** inflamed and infected material from the system of **root** channels, disinfection of the same system and its substitution by felling material. It also verifies, in the present day, the lack of consent among researchers, as to the ideal material to be used in the **endodontic** fillings. In this way, the present work aimed at the accomplishment of a comparative histological evaluation, through biological tests, according to criteria established by the International Dental Federation of three materials indicated for this end. In this experiment the following materials were tested: AHPlus, another **endodontic** material recently introduced to the market Epiphany and MTA, Aggregated Trioxide Mineral. Thirty (30) guinea-pigs were used (" Guinea Pig ") ten (10) for each material, divided in experimental periods of 30 and 90 days. Two (2) inter-bone implants were accomplished in each animal, in the lateral area to the mandible **sínfisis**, on the side of the incisive teeth. So as to condition the tested materials **Teflon cups** were used, as the sides served as control. Terminating the experimental periods, the animals were sacrificed and the specimens were prepared for routine histological exam. The results showed that MTA as much as the Epiphany cement presented biocompatibility characteristics according to the criteria adopted and AHPlus did not. The results allowed us to conclude, according to FDI and ADA /ANSI protocols, that the Epiphany and MTA materials are biocompatible, presenting biological conditions for their use as **endodontic filling** material.

Key terms: biocompatibility, root canals sealers, endodontics.