

Renata Figueiredo Accetta

**Avaliação *in vivo* e análise morfológica da
resposta tecidual de quatro materiais
retrobturadores – MTA branco, DiaRoot
Bioaggregate, Ceramicrete e iRoot PP**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre. Área de concentração: Clínica Odontológica

Orientadora: Professora Dra. Izabel Coelho Gomes Camões

Co-orientadora: Professora Dra Etyene Castro Dip

Universidade Federal Fluminense
Niterói
2010

Ac229

Accetta, Renata Figueiredo

Avaliação in vivo e análise morfológica da resposta tecidual de quatro materiais retrobturadores – MTA branco, Diaroot, Ceramicreate e Iroot/ Renata Figueiredo Accetta; orientadora: Prof^a Dr^a Izabel Coelho Gomes Camões – Niterói [s.n], 2010.

58f:il; 30cm

Dissertação (Mestrado em Clínica odontológica)- Universidade Federal Fluminense, 2010.

Bibliografia: 52-58

1. Matriais retrobturadores 2.perfuração radicular 3. Cirurgia parendodôntica

I. Camões, Izabel Coelho Gomes (orien) II. Título

CDD 617.6342

RENATA FIGUEIREDO ACCETTA

Avaliação *in vivo* e análise morfológica da resposta tecidual de quatro materiais retrobturadores – MTAbranco, DiaRoot, Ceramicrete E iROOT PP

ORIENTADORA: Professora Dra. Izabel Coelho Gomes Camões

CO-ORIENTADORA: Professora Dra Etyene Castro Dip

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre. Área de Concentração: Clínica Odontológica

Aprovado em ____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Izabel Coelho Gomes Camões
Universidade Federal Fluminense – UFF / Niterói

Prof. Dra. Etyene Castro Dip
Universidade Federal Fluminense – UFF /PUNF

Prof. Dra. Sandra Rivera Fidel
Universidade Estadual do Rio de Janeiro – UERJ / Rio de Janeiro

Niterói
2010

Dedicatória

Aos meus pais Italo e Rosel, irmãos André e Danielle e meu noivo Arnoldo, as pessoas mais importantes da minha vida que estarão sempre em meu coração.

Agradecimentos

A Deus por estar sempre presente na minha vida e me permitir realizar mais essa conquista.

Aos meus pais Italo e Rosel pelo amor, carinho, dedicação e incentivo que sempre me deram.

Ao meu noivo Arnaldo por estar sempre ao meu lado, pelo amor, carinho, amizade, companheirismo e incentivo.

Aos meus irmãos André e Danielle pela amizade, companheirismo e união.

A minha sogra Sadamar pelo amor e amizade.

A minha cunhada e amiga Meg por me ajudar sempre que preciso.

A minha professora Etyene Castro Dip pela amizade, carinho, co-orientação nesse trabalho, críticas, sugestões e ajuda na interpretação dos resultados da pesquisa.

A minha professora Cinthya Cristina Gomes pela amizade e incentivo na realização desse trabalho.

A minha professora orientadora Izabel Coelho Gomes Camões pelos ensinamentos que me passou e pela confiança depositada em mim.

Ao professor Albino Fonseca Jr pela colaboração na avaliação histopatológica do meu trabalho.

Ao professor Gustavo De Deus pela doação dos materiais utilizados nessa pesquisa.

A todos que me ajudaram de forma direta ou indireta a realizar esse trabalho.

Sumário

Lista de Tabelas	8
Lista de Ilustrações	9
Lista de abreviaturas, siglas e símbolos	10
Resumo	11
Abstract	12
1. Introdução	13
2. Objetivo	15
3. Revisão de literatura.....	16
3.1. MTA	16
3.2. Avaliação da capacidade de selamento e adaptação marginal do MTA.....	17
3.3. Avaliação da infiltração bacteriana realizada em estudos <i>in vitro</i> com MTA.....	23
3.4. Avaliação da resposta tecidual do MTA realizada em estudos <i>in vivo</i>	25
3.5. Avaliação do MTA realizada em estudos em humanos	34
3.6. DiaRoot Bioaggregate	35
4. Materiais e métodos	38
4.1. Animais	38
4.2. Materiais e substâncias:	38
4.3. Procedimentos cirúrgicos e preparo dos animais	38
4.4. Grupos Experimentais	40
4.5. Análise morfológica	41
4.6. Análise Estatística	42
5. Resultados	43
5.1. Análise morfológica das mandíbulas	43
5.2. Avaliação quantitativa e qualitativa das células inflamatórias	46
6. Discussão.....	49
7. Conclusão	53
8. Referências bibliográficas.....	54

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Análise quantitativa e qualitativa das células inflamatórias.	47
--	-----------

Lista de Ilustrações

Figura 1 – Fotografia digital do animal após tricotomia e incisão extraoral do lado direito em região de mandíbula.	40
Figura 2 – Fotografia digital após a incisão e rebatimento do retalho. No detalhe exposição da cavidade óssea.	40
Figura 3 – Fotografia digital mostrando defeito ósseo preenchido com o biomaterial.	40
Figura 4 – Fotografia digital da sutura realizada após o procedimento cirúrgico.	40
Figura 5 – Fotografia digital do preparo do bloco de mandíbula após dissecação.	41
Figura 6 – Avaliação morfológica das mandíbulas de ratos dos grupos controle: positivo (MTA – A, B e C) / negativo (animal <i>sham</i> – D, E e F)	43
Figura 7 – Avaliação morfológica das mandíbulas de ratos preenchidas com Ceramicrete	44
Figura 8 – A análise morfológica das mandíbulas de ratos preenchidas com DiaRoot	45
Figura 9 – A análise morfológica das mandíbulas de ratos preenchidas com iRoot PP	46
Figura 10 – Representação gráfica da análise quantitativa e qualitativa das células inflamatórias após 60 dias de tratamento com os biomateriais. Erro! Indicador	

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

ANOVA – Análise de variância
MTA – Agregado Trióxido Mineral
EUA – Estados Unidos da América
IRM – Material Restaurador Intermediário
pH – Potencial Hidrogeniônico
EBA – Ácido Etoxybenzóico
mm – Milímetro
°C – Graus Celsius
% - Porcentagem
X – Vezes
Nº - Número
MBP– c – Moraes / Berbet pasta cirúrgica
BHI – Infusão de cérebro e coração
OZE – Óxido de Zinco e Eugenol
> - Maior
<- Menor
PMN – Células Polimorfos Nucleares
g – grama
NAL – Núcleo de Animais de Laboratório
PSS – Solução Salina Fisiológica
mM – Milimol
µm - Micrômetro
Na Cl – Coreto de Sódio
KCl – Cloreto de Potássio
MgCl₂ – Cloreto de Magnésio
NaH₂PO₄ – Hidrogeno Fosfato deSódio
mg/Kg – miligrama por kograma
EDTA – Ácido Etilenodiamino tetracético

Resumo

Os compostos utilizados como materiais retrobturadores e para reparação de perfurações dentárias ficam em íntimo contato com os tecidos periradiculares tendo grande influência sob seu metabolismo. Resultados preliminares de testes *in vitro* e de testes de implantação intra-óssea, mostraram que o Agregado Trióxido Mineral (MTA) apresenta propriedades físico-químicas e biológicas satisfatórias. Este trabalho teve como objetivo avaliar a resposta tecidual e a resposta inflamatória de 4 novos biomateriais retrobturadores (MTA branco ProRoot - Dentsply Tulsa Dental, DiaRoot Bioaggregate - Diadent- Made Canadá, Ceramicrete - Dentsply Tulsa Dental e iRoot PP - Injectable Root Canal Sealer). Foram utilizados 25 ratos Wistar do sexo masculino divididos em 5 grupos experimentais. Foi confeccionada uma cavidade na mandíbula de cada animal que foi preenchida com os biomateriais analisados. Após 60 dias os animais foram sacrificados e os tecidos preparados para examinação histológica. Como controle positivo foi utilizado o MTA branco devido a suas comprovadas respostas teciduais e como controle negativo animais *sham* que tiveram suas cavidades ósseas deixadas vazias. A presença de inflamação e o tipo celular predominante foram registrados. A análise estatística realizada utilizou o teste t-Student e método ANOVA. Conclui-se que o Ceramicrete foi a substância mais inerte onde não foi observado reação inflamatória significativa. O DiaRoot Bioaggregate apresentou resposta inflamatória aguda e crônica de intensidade leve a moderada e o iRoot PP apresentou resposta inflamatória de moderada a severa e hipersensibilidade tecidual.

Abstract

The compounds used as root end filling materials and repair dental drill are in close contact with the periradicular tissues having great influence on your metabolism. In vitro tests results and intraosseous tests implantation showed that the Mineral Trioxide Aggregate (MTA) presents satisfactory physico-chemical and biological. The aim of the study was evaluate the tissue and inflammatory response of 4 new biomaterials end filling (white MTA ProRoot - Dentsply Tulsa Dental, DiaRoot Bioaggregate - Diadent-Made Canada, Ceramicrete - Dentsply Tulsa Dental and iRoot PP - Injectable Root Canal Sealer). This study used 25 male Wistar rats divided into five groups. A cavity was made in the mandible of each animal was filled with the biomaterials examined. After 60 days the animals were sacrificed and tissues prepared for histological examination. As a positive control was used white MTA because their proven tissue responses and as a negative control sham animals that yours cavity was empty. The presence of inflammation and the type cell predominant were recorded. The statistical analysis used the Student t test and ANOVA. We conclude that the Ceramicrete was the most inert substance and did not show significant inflammatory response. DiaRoot Bioaggregate showed acute and chronic inflammation response varying from mild to moderate and iRoot PP showed inflammatory response from moderate to severe intensity and tissue hipersensibility

1. Introdução

Os materiais retrobturadores são usados em cirurgias parendodônticas, realizadas quando o retratamento endodôntico fracassou ou quando este estiver contra indicado. Da mesma forma, eles podem ser usados quando ocorre algum acidente no interior do sistema de canais radiculares que comunique a cavidade pulpar com o ligamento periodontal.

A perfuração radicular é definida como uma lesão artificial involuntária, que comunica a cavidade pulpar com o ligamento periodontal, sendo um dos possíveis acidentes e complicações durante o tratamento endodôntico ou no preparo para núcleo (ALHADAINY, 1994, BRAMANTE et al 2004, KVINNSLAND, et al 1989, LEMON et al 2002, PITT FORD,1998).

O Agregado Trióxido Mineral (MTA) por apresentar boas propriedades físico-químicas e biológicas é empregado em cirurgias periapicais como material retrobturador e usado para selar as comunicações entre o sistema de canais radiculares e o periodonto, sendo o material de eleição para o selamento de perfurações radiculares (TORABINEJAD et al 1993, TORABINEJAD et al 1994, TORABINEJAD et al 1995, PITT FORD et al 1995, TORABINEJAD et al 1995, TORABINEJAD et al 1997).

O MTA promove regeneração tecidual, implicando na formação de osso no local cirúrgico e formação cementária sobre a ressecção radicular e sobre o material obturador (REGAN 2002). No entanto, ele também possui algumas desvantagens como o longo tempo de presa e o alto custo (BORTOLUZZI, 2005). Por esse motivo é interessante haver outros produtos que apresentem as mesmas vantagens do MTA.

A aceitação de novos materiais é baseada em trabalhos experimentais e laboratoriais que comprovem a biocompatibilidade desses produtos. Os testes de implantação de materiais obturadores e retrobturadores de canais radiculares em pequenos animais são considerados testes válidos nas etapas

preliminares de histocompatibilidade pela American Dental Association e pela Fédération Dentaire Internationale.

Partindo dessas considerações, o presente estudo centrou-se em analisar histologicamente a resposta dos tecidos de ratos frente à implantação intra-óssea dos seguintes materiais retrobturadores: DiaRoot Bioaggregate, Ceramicrete e iRoot PP comparando seus resultados com os resultados da implantação intra-óssea de MTA branco (ProRoot®) o qual, já é mundialmente aceito como material biocompatível.

2. Objetivo

O objetivo desse estudo foi analisar histologicamente a resposta dos tecidos de mandíbula de ratos após a implantação intra-óssea de biomateriais.

- Padronizar o modelo experimental *in vivo* de implante de biomateriais em mandíbulas de ratos para avaliação clínica e morfológica após 60 dias do procedimento cirúrgico;
- Quantificar e classificar o padrão histológico celular da resposta do tecido ósseo mandibular aos biomateriais implantados;
- Comparar a resposta inflamatória dos materiais retrobturadores: MTA branco (ProRoot[®]), DiaRoot Bioaggregate, Ceramicrete e iRoot PP após 60 dias da implantação intra-óssea em mandíbula de ratos.

3. Revisão de literatura

3.1. MTA

O MTA foi proposto em 1993 por LEE; MONSEF e TORABINEJAD, pesquisadores da Universidade de Loma Linda, Loma Linda – Califórnia, EUA. Os autores desenvolveram esse material com finalidade de selar as comunicações entre o sistema de canais radiculares e o periodonto, comparando a capacidade de seu selamento com o Amálgama de prata e o IRM em perfurações radiculares laterais em 50 molares extraídos. Os dentes foram colocados em solução simulando condições clínicas. Após 4 semanas mergulharam os espécimes em corante azul de metileno, por 48 horas. A qualidade do selamento dos materiais foi comparada pela infiltração do corante demonstrando um menor índice de infiltração marginal com o MTA, que foi estatisticamente superior aos outros materiais.

Em 1995, TORABINEJAD et al determinaram a composição química, pH e radiopacidade do MTA, além de compararem seu tempo de endurecimento, resistência à compressão e solubilidade com o Amálgama, Super-EBA e IRM. Foi adicionado Óxido de bismuto ao MTA a fim de conferir radiopacidade. Os resultados mostraram que as principais moléculas presentes neste material são íons Cálcio e Fósforo. O pH inicialmente, foi 10,2 aumentando para 12,5 após 3 horas de manipulação. O MTA se apresentou mais radiopaco que o IRM e o Super-EBA e menos que o Amálgama. O MTA apresentou o maior tempo de endurecimento (2 horas e 45 minutos). Quanto à resistência, o MTA apresentou a mais baixa e com exceção do IRM nenhum deles mostrou solubilidade sob as condições do estudo. Em 2000, ZHU et al realizaram um estudo “in vitro” para observar a capacidade de adesão de osteoblastos humanos a materiais freqüentemente utilizados em obturação retrógrada. Por meio de microscopia eletrônica de varredura. Os materiais testados foram IRM, MTA, Resina composta e Amálgama. Discos contendo os materiais retrobturadores já endurecidos foram colocados por apenas 1 dia no meio de cultura e, então, analisados ao microscópio. A adesão, difusão, propagação ou expansão das

células sobre a superfície de um material representam a fase inicial da função celular. A persistência de células circulares ou arredondadas com pouca ou nenhuma difusão sugere que a superfície do material pode ser tóxica. Os resultados mostraram que os osteoblastos fixaram-se e propagaram-se sobre o MTA e sobre a Resina composta formando uma monocamada de células. Sobre o Amálgama, os osteoblastos fixaram-se, mas com pouca difusão de células. Na presença do IRM, os osteoblastos apresentaram forma circular e sem expansão. Os resultados indicaram uma resposta favorável ao MTA e a resina composta em comparação ao IRM e ao Amálgama.

Em 2000, ZHU et al realizaram um estudo “in vitro” para observar a capacidade de adesão de osteoblastos humanos a materiais freqüentemente utilizados em obturação retrógrada. Por meio de microscopia eletrônica de varredura. Os materiais testados foram IRM, MTA, Resina composta e Amálgama. Discos contendo os materiais retrobturadores já endurecidos foram colocados por apenas 1 dia no meio de cultura e, então, analisados ao microscópio. A adesão, difusão, propagação ou expansão das células sobre a superfície de um material representam a fase inicial da função celular. A persistência de células circulares ou arredondadas com pouca ou nenhuma difusão sugere que a superfície do material pode ser tóxica. Os resultados mostraram que os osteoblastos fixaram-se e propagaram-se sobre o MTA e sobre a Resina composta formando uma monocamada de células. Sobre o Amálgama, os osteoblastos fixaram-se, mas com pouca difusão de células. Na presença do IRM, os osteoblastos apresentaram forma circular e sem expansão. Os resultados indicaram uma resposta favorável ao MTA e a resina composta em comparação ao IRM e ao Amálgama.

3.2. Avaliação da capacidade de selamento e adaptação marginal do MTA

Em 1995, TORABINEJAD et al avaliaram a adaptação marginal do MTA quando empregado como material retrobturador, sob a microscopia de varredura, comparando-o ao Amálgama, Super EBA e IRM. A distância entre os materiais retrobturadores e a superfície dentinária foi avaliada em 4 pontos distintos com aumento de 30X e 100X. A análise estatística dos valores obtidos demonstrou que o MTA foi o material de melhor adaptação marginal quando comparado aos outros materiais estudados.

Em 1998, SLUYK, MOON e HARTWELL avaliaram o efeito do tempo e da umidade na presa, adaptação e retenção do MTA quando empregado como material selador de perfurações de furca. Trinta e dois molares humanos extraídos foram utilizados. Os dentes tiveram as coroas extraídas em um nível acima do assoalho da câmara pulpar e as raízes removidas logo abaixo da região de furca. O espécime em estudo foi montado em uma base de resina acrílica, perfurado com brocas esféricas número 2 e alargado com brocas Gates-Glidden número 5. Para simular a situação clínica uma espuma de Gelfoam umedecida foi colocada em baixo da perfuração. Obturaram-se os espécimes com MTA e, sobre ele, foi colocado uma mecha de algodão seca ou úmida por um período de 24 ou 72 horas. Utilizando-se o teste de Instron obteve-se os valores da força requerida para deslocar o material da perfuração. Os autores concluíram que o MTA resistiu ao deslocamento a um nível significativo maior em 72 horas do que em 24 horas e que quando um ligeiro deslocamento ocorreu no período de 24 horas, o material demonstrou capacidade de restabelecer resistência ao deslocamento das paredes dentinárias. A presença de umidade após o selamento resultou em melhoria na adaptação do MTA às paredes da perfuração, entretanto, não houve diferença significativa na retenção do MTA quando bolinhas de algodão secas ou úmidas foram colocadas na câmara pulpar durante o período experimental.

Também em 1998, NAKATA, BAE e BAUMGARTNER compararam a efetividade do MTA e do Amálgama no selamento de perfurações de furca utilizando bactérias anaeróbias (*Fusobacterium nucleatum*). Foram utilizados 39 molares superiores e inferiores humanos extraídos, nos quais foram realizadas

perfurações nas regiões de furca. Os dentes foram divididos em 4 grupos. O grupo 1 foi composto por 18 dentes selados com MTA, o grupo 2 foi composto por 18 dentes selados com amálgama, o grupo 3 foi composto por 3 dentes perfurados sem selamento, como controle positivo e o grupo 4 foi composto por 3 dentes sem perfuração, como controle negativo. A infiltração foi observada no meio de cultura pela troca de cor (de roxa para amarela). Após 45 dias, no grupo do MTA não houve infiltração e no grupo do Amálgama foram observados 8 dentes com infiltração bacteriana. Os resultados indicaram que o MTA foi superior ao amálgama na prevenção de infiltração de *Fusobacterium nucleatum*, no selamento de perfurações de furca.

Em 2000, AQRABAWI avaliou a capacidade do selamento apical do Super EBA, Amálgama e MTA empregados como materiais retrobturadores em dentes humanos extraídos. Foram empregados 79 caninos humanos. As coroas desses dentes foram seccionadas, os canais foram instrumentados e obturados. Seqüencialmente foi realizada a remoção dos 3 mm apicais e o preparo das retrocavidades (realizado com auxílio de pontas de ultra-som), e a retrobturação. Os espécimes foram imersos em solução azul de metileno a 1% por 72 horas. A avaliação foi realizada em estereomicroscópio com aumento de 10X. Os resultados apurados estão de acordo com os resultados apresentados em 1993 por LEE, MONSEF e TORABINEJAD onde o MTA foi o material que se mostrou mais resistente à penetração do corante na interface com a superfície dentinária.

Também em 2000, CAICEDO et al avaliaram a capacidade seladora do Diaket, Super EBA e ProRoot MTA[®] no selamento de perfurações radiculares. Foram utilizados 62 dentes unirradiculares divididos em 3 grupos de 20 dentes cada e um dente para controle positivo e negativo respectivamente. Após serem instrumentados e obturados pelas técnicas de condensação lateral e vertical, os dentes foram desobturados 8 mm de seu comprimento e perfurados com uma broca esférica nº 2, a 4 mm da superfície cervical. As perfurações foram seladas e, imediatamente foi injetada, no canal, solução de azul de metileno 2%. A microinfiltração foi medida com espectrofotômetro em períodos

de 24, 48 e 72 horas e 6, 7, 8, 9, 13, 14 e 16 dias. Os resultados entre todos os materiais não mostraram diferença estatisticamente significativa entre os dias 3 e 13. O Super EBA foi o melhor em todos os períodos de tempo; o ProRoot MTA[®] mostrou uma alta microinfiltração em 24 e 48 horas, porém diminuiu, e no final do período não mostrou diferença com o Super EBA. O Diaket, inicialmente, apresentou-se com baixa microinfiltração, que aumentou no final do período.

TANOMARU FILHO, TANOMARU e DOMANESCHI, em 2002, avaliaram a capacidade de selamento do MTA, Sealer 26 e Cimento de óxido de zinco e eugenol. Foram utilizados 36 dentes humanos unirradiculares, instrumentados e obturados. As cavidades foram realizadas no terço médio na face distal da raiz até atingir a obturação do canal (simulando uma perfuração radicular). Em seguida, as cavidades foram preenchidas com os materiais em teste, e os dentes foram imersos em solução azul de metileno a 2% por 48 horas, em ambiente com vácuo. A infiltração marginal foi analisada por um perfilômetro em um aumento de 20X. Os resultados da avaliação demonstraram que o Sealer 26 e o MTA proporcionaram selamento marginal semelhante, com resultados superiores aos obtidos pelo cimento de óxido de zinco e eugenol.

AVELLAR et al em 2002, avaliaram a capacidade seladora do Sealapex + óxido de zinco, Dyract, Vitremer, ProRoot MTA[®] e MTA Angelus[®], quando empregados no selamento de perfurações radiculares laterais. Foram utilizados 50 dentes humanos unirradiculares extraídos, com canais instrumentados e obturados. As cavidades foram confeccionadas na parte distal da raiz (simulando uma perfuração radicular), essas cavidades foram preenchidas com os materiais em teste. Após impermeabilização, exceto no local da perfuração, os dentes foram imersos em solução azul de metileno a 2%, em ambiente com vácuo durante 48 horas. Foi utilizado um perfilômetro para a análise da infiltração. Os resultados demonstraram que existiu infiltração mínima para todos os materiais e não houve diferença estatisticamente significativa.

FAILEIROS, TANOUMARU e TANOUMARU FILHO, em 2002, avaliaram a capacidade seladora e extravasamento do Sealer 26, Sealapex + óxido de zinco, ProRoot MTA[®] e MTA Angelus[®], no selamento de perfurações de furca. Foram utilizados 48 molares inferiores humanos extraídos, com as porções coronárias e o terço apical seccionados. Os dentes foram posicionados sobre o material de moldagem à base de silicóna e as perfurações foram feitas na região central da bifurcação. As perfurações foram seladas com os materiais em teste e os dentes foram imersos em solução de azul de metileno a 2% em ambiente à vácuo por 48 horas. Os resultados mostraram que o Sealer 26 apresentou melhor capacidade seladora e maior extravasamento do que os outros materiais e que o ProRoot MTA[®] e o MTA Angelus[®] foram satisfatórios nas 2 avaliações.

Em 2002, BRANDÃO et al avaliaram “in vitro” a capacidade de selamento marginal do ProRoot MTA[®] e do MTA Angelus[®], quando usados como material de selamento de perfurações de furca. Foram utilizados 30 molares humanos extraídos. As perfurações foram realizadas em alta rotação com broca esférica nº 2. Os dentes foram divididos em 2 grupos de 10. No grupo I foi utilizado o ProRoot MTA[®] e no grupo II o MTA Angelus[®]. Os 5 dentes restantes foram utilizados como controle positivo e 5 dentes adicionais não perfurados serviram como controle negativo. As câmaras pulpares e as cavidades de acesso foram preenchidas com cimento de ionômero de vidro (Vidrion R). Os dentes foram imersos por 72 horas em corante Rhodamine B a 2% e, posteriormente, as amostras foram seccionadas e avaliadas utilizando o aparelho Profile Projector Nikon, modelo V-16. Os resultados mostraram não haver diferenças estatisticamente significante nos 2 grupos testados. Foi concluído que o ProRoot MTA[®] e o MTA Angelus[®] apresentam a mesma capacidade de selamento marginal, quando usados em perfurações de furca.

Ainda em 2002, SILVA NETO avaliou “in vitro” a capacidade seladora e a adaptação marginal de alguns materiais quando utilizados em perfurações de furca. Foram utilizados 104 molares humanos extraídos, dos quais 88, para analisar a capacidade seladora e o restante (16 dentes) para verificar a

adaptação marginal, utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV). As coroas dos dentes foram removidas num nível acima do assoalho da câmara pulpar. As perfurações foram realizadas com brocas número 2 e Gates Glidden número 5 e seladas da seguinte maneira: Grupo 1- MTA Angelus; Grupo 2- ProRoot MTA[®]; Grupo 3- Super EBA e Grupo 4- MBP-c. Em cada grupo formaram-se subgrupos, que receberam ou não matriz de gesso Paris. Os dentes foram imersos em solução corante Rhodamine B a 0,2%, a uma temperatura de 37°C por 48 horas. Os resultados referentes à infiltração marginal mostraram que quando os materiais foram utilizados isoladamente, o cimento MBP-c apresentou os menores índices de infiltração, havendo diferença estatística entre ele e os cimentos ProRoot MTA[®] e MTA Angelus[®]. A utilização de uma matriz de gesso Paris, sofreu uma influência negativa para o selamento marginal dos cimentos MBP-c e Super EBA, mas evitou o extravasamento dos materiais utilizados. Houve uma relação direta entre a capacidade de selamento e a adaptação marginal dos materiais.

Em 2004, FERRIS e BAUMGARTNER avaliaram a capacidade de selamento de 2 tipos de MTA (branco e cinza) em perfurações de furca em molares humanos extraídos, usando um modelo experimental para infiltração de bactérias anaeróbicas. Foram utilizados 40 dentes, esses tiveram suas coroas removidas e 5 mm do terço apical. As perfurações foram realizadas no centro do assoalho. Os dentes foram divididos em 2 grupos experimentais, cada um contendo 18 dentes. Dois dentes foram deixados para controle positivo e dois para controle negativo. No grupo I as perfurações foram seladas com MTA cinza e no grupo II com MTA branco. Os dentes foram montados em matrizes para mantê-los a 37°C e com 100% de umidade e o meio de cultura utilizado foi especificamente para o *Fusobacterium nucleatum*. Após o selamento, os dentes foram armazenados em câmara anaerobiótica a 37°C e observados diariamente. As avaliações da infiltração bacteriana chegaram a 60 dias e os resultados mostraram que 2 das 18 amostras seladas com MTA cinza e 3 das seladas com MTA branco infiltraram, mas não houve diferença estatisticamente significativa entre os 2 grupos de MTA.

Em 2009, GOMES et al avaliaram a capacidade de adaptação de diferentes materiais retrobturadores (Amálgama, guta percha, OZE, IRM, N-Rickert, Ketac-CEM, Super EBA e MTA) às paredes do preparo apical. Foram realizadas apicetomia e preparo cavitário em 24 raízes palatinas de molares superiores. Para a fase de retrobturação as raízes foram divididas aleatoriamente em 8 grupos cada um contendo 3 amostras cada. A seguir os espécimes foram fotografados em microscópio óptico e eletrônico de varredura com aumento de 50X e 150X. Os resultados foram analisados por 3 examinadores calibrados e estabelecidos escores. Os melhores resultados foram obtidos pelo MTA seguido pelo Super EBA. Os demais materiais não apresentaram boa adaptação às paredes do preparo cavitário.

3.3. Avaliação da infiltração bacteriana realizada em estudos *in vitro* com MTA

Em 1994, TORABINEJAD et al, compararam a infiltração marginal, em presença ou ausência de sangue em cavidades apicais preenchidas com Amálgama, Super-EBA, IRM e MTA. O estudo foi realizado em 90 dentes humanos extraídos, instrumentados e obturados, com exceção dos 2 mm apicais que foram seccionados e uma cavidade apical de 2 mm de profundidade preparada com uma broca. Cinco cavidades foram preenchidas com guta-percha sem cimento e outras cinco, com cera em bastão, que serviram como cotroles positivo e negativo, respectivamente. Os dentes foram divididos aleatoriamente em grupos de 10, na presença e ausência de sangue, no momento da colocação dos materiais em teste. Imediatamente foram imersos em solução corante azul de metileno a 1% por 72 horas. As raízes foram cortadas e a penetração do corante dentro da cavidade apical foi avaliada utilizando o estereomicroscópio. A presença ou ausência de sangue não teve efeito significativo sobre a infiltração do corante, no entanto, houve diferença significativa entre os materiais testados. O MTA mostrou infiltrações menores do que os outros materiais, com ou sem contaminação de sangue.

Em 1996, BATES, CARNES e DEL RIO avaliaram o MTA, o Amálgama + verniz e o Super EBA quanto à micro infiltração por meio do sistema de condução de fluidos. Foram utilizados 72 dentes humanos extraídos os quais foram apicectomizados, retropreparados e retrobturados com os materiais em estudo. Os espécimes foram colocados em solução salina de fosfato tamponada em alta pressão. Os resultados mostraram que o MTA foi superior ao Amálgama e comparável ao Super EBA quanto a habilidade de prevenir micro infiltração quando usado como material de preenchimento em retrobturação. Segundo os autores, esse é o método mais eficiente de prevenir microinfiltração, pois é capaz de mensurar a infiltração cumulativamente na interface material selador e superfície radicular de forma quantitativa.

Em 1998, FISCHER, ARENS e MILLER avaliaram a infiltração bacteriana do MTA, Super EBA, IRM e Amálgama quando empregados em retrobturações. Foram utilizados 56 dentes uniradiculares. Após o preparo e obturação do canal foi realizada apicetomia em 3 mm e retropreparo em 3 mm de profundidade com auxílio de pontas ultra-sônicas. Os dentes foram esterelizados e divididos em 4 grupos de 10 dentes cada. O controle positivo foi a guta percha sem cimento e o controle negativo foi a cera pegajosa. Os dentes foram impermeabilizados com esmalte de unha, colocados dentro de um tubo de plástico com meio de cultura e presos na região da junção cimento-esmalte. Foram inoculados 0,1 ml de cultura de *Serratia marcescens* dentro do canal que caso chegasse ao ápice, a coloração do meio de cultura mudaria. Os dentes foram avaliados por um período de 120 dias. Os resultados mostraram que o MTA promoveu um melhor selamento apical sendo que suas amostras começaram a corar com 49 dias e ao final de 120 dias, das 10 ainda restavam 4 amostras sem infiltração. Os dados, quando submetidos à análise estatística mostraram que o MTA foi superior.

Em 2001, SCHEERER; STEIMAN; COHEN avaliaram a infiltração bacteriana com *Prevotella nigrescens* utilizando o MTA, Super EBA e Geristore como materiais retrobturadores. A instrumentação dos dentes foi realizada com instrumentos rotatórios Profile série 29 e a apicetomia foi realizada nos 3 mm

apicais. O preparo das retrocavidades foi feito com pontas de ultra-som e a retrobturação com os materiais em estudo. Os resultados encontrados não apresentaram diferenças significantes entre os 3 materiais para a penetração dessa bactéria no período de 47 dias.

Em 2001, DALÇÓQUIO et al realizaram um trabalho quanto a infiltração apical após retrobturações empregando o MTA, Ketac-Fil, IRM, Ionômero de vidro e Cianocrilato. Foram utilizados 120 dentes humanos extraídos, Após apicetomia, as cavidades retrógradas de 3 mm de profundidade foram preparadas com auxílio de pontas de ultra-som e as retrobturações foram realizadas com os materiais em estudo. Após imersão em corante azul de metileno e análise por meio de espectrofotometria aos 2, 7 e 60 dias, os autores relataram que os melhores resultados foram obtidos com o emprego do MTA, sendo que aos 7 dias os valores foram significantes do ponto de vista estatístico.

3.4. Avaliação da resposta tecidual do MTA realizada em estudos *in vivo*

Em 1994, HONG et al avaliaram histologicamente a resposta tecidual nas perfurações de furca seladas com Amálgama ou MTA. Após a terapia endodôntica, foram realizadas perfurações na furca de 32 terceiros e quartos pré-molares de seis cães. Metade das perfurações foram mantidas abertas por 4 semanas para que as lesões de furca se desenvolvessem, sendo que passado esse período as perfurações foram seladas com amálgama ou MTA. A outra metade das perfurações foi selada imediatamente com os mesmos materiais. Após um período de quatro meses os animais foram sacrificados. A análise estatística mostrou que as perfurações seladas com MTA cicatrizaram significativamente melhor do que aquelas seladas com Amálgama. A análise histomorfométrica mostrou que as perfurações seladas com Amálgama apresentaram mais inflamação e reabsorção óssea quando comparadas às seladas com MTA. Concluiu-se que o MTA é um material que pode ser usado para selamento de furca.

Em 2000, MORETTON et al compararam a biocompatibilidade e o potencial osteocondutivo e osteoindutivo do MTA e do Super EBA após implantes subcutâneos e intra-ósseos em ratos. A reação tecidual foi avaliada em 15, 30 e 60 dias após os implantes. Os implantes subcutâneos do MTA induziram, inicialmente, reações severas como necrose por coagulação, calcificações distróficas e áreas de fibrose. Com o decorrer do tempo, a reação tornou-se moderada. Já os implantes do Super EBA induziram, inicialmente, reações inflamatórias moderadas. Com o passar do tempo o material foi encapsulado por tecido conjuntivo fibroso e a inflamação foi predominantemente suave. Com nenhum dos materiais no implante subcutâneo foi observado osteogênese, isso indica que nenhum dos materiais foi osteoindutor. Para os implantes intra-ósseos, a reação tecidual para ambos os materiais foram menos intensas do que para os implantes subcutâneos. Ocorreu osteogênese associada a esses implantes, indicando que ambos os materiais são osteocondutores. Os 2 materiais foram considerados biocompatíveis.

Em 2008, COUTINHO-FILHO et al avaliaram as reações do tecido conjuntivo subcutâneo de 40 ratos e a radiopacidade do MTA, cimento Portland e cimento Portland com óxido de bismuto. Tubos de polietileno foram preenchidos com os materiais a serem testados e foram feitas imagens radiográficas padronizadas. A avaliação histológica foi feita após 7 e 60 dias. A radiopacidade dos materiais foi em ordem decrescente: ProRoot MTA[®] > Cimento Portland com óxido de bismuto (1:1) > Cimento Portland com óxido de bismuto (2:1) > Cimento Portland. Nenhuma diferença foi encontrada para resposta tecidual nos 2 períodos experimentais. A avaliação histológica sugeriu que todos os materiais estudados foram biocompatíveis em 7 e 60 dias.

Em 2009, LOTFI et al avaliaram subjetivamente as células inflamatórias subsequente a implantação subcutânea de MTA branco com hidrogeno fosfato de sódio em ratos. Foram utilizados 40 ratos Wistar nesse estudo. Tubos de polietileno contendo MTA branco com hidrogeno fosfato de sódio, MTA branco sozinho e tubos vazios que serviram como controle foram implantados no tecido subcutâneo desses animais e esses foram examinados histologicamente

após 7, 15, 30 e 90 dias. As reações inflamatórias foram classificadas como 0 ou nenhuma reação inflamatória (ausência de células inflamatórias), 1 ou suave (menos de 25 células inflamatórias), 2 ou moderada (de 25 a 125 células inflamatórias) e 3 ou severa (mais de 125 células inflamatórias). Obteve-se como resultado: O MTA branco sozinho provocou reação inflamatória moderada depois de 7 e 15 dias com diferença significativa para o MTA branco com hidrogeno fosfato de sódio e o grupo controle que provocou uma reação inflamatória suave. Entretanto, não existiu diferença em qualquer período em torno de 30 dias. Esse estudo indicou que a adição de hidrogeno fosfato de sódio no MTA branco criou um material mais biocompatível que o MTA branco sozinho.

Em 1993, BHAMBHANI e BOLANOS implantaram Teflon, IRM e Prisma VLC Dycal na mandíbula de 16 porquinhos da Índia. Após o período experimental de 4 e 12 semanas, os animais foram sacrificados e os tecidos seccionados foram preparados para exame histológico. Nenhuma resposta inflamatória severa foi observada em todos os grupos exceto uma persistência de inflamação moderada no grupo do Teflon em que este se apresentava pobremente condensado. No grupo do Prisma VLC Dycal ocorreu aposição óssea, ausência de inflamação e cápsula fina fibrosa caracterizaram o grupo do IRM, e o grupo do Teflon apresentou encapsulamento fibroso exceto para as amostras onde parecia estar pobremente condensado e disperso no tecido ósseo. Nessas áreas a inflamação crônica e a atividade fagocitária foram observadas ao longo da superfície do material.

Em 1995, TORABINEJAD et al realizaram um estudo para avaliar a reação tecidual frente à implantes de Super EBA e MTA em mandíbulas de 7 porquinhos da Índia. Os animais foram anestesiados, os retalhos foram abertos e as cavidades ósseas foram preparadas. Foram feitas 2 cavidades ósseas de 2 mm de profundidade e 2 mm de diâmetro em cada animal. Os materiais a serem testados foram colocados em tubos de teflon e implantados na mandíbula de 6 animais. Duas cavidades ósseas foram deixadas vazias e usadas como controle negativo. Após 60 dias os animais foram sacrificados e

as peças preparadas para análise histológica. A presença de inflamação, o tipo celular predominante e a espessura do tecido conjuntivo fibroso adjacente a cada implante foram observados. Observou-se que a reação tecidual frente ao implante de MTA foi um pouco menor do que ao implante de Super EBA. Todas as amostras de Super EBA apresentaram tecido conjuntivo fibroso próximo ao cimento, no entanto, no grupo do MTA foi observado tecido ósseo adjacente ao implante em 1 da 5 lâminas. Foi observada uma inflamação leve em todos os implantes de Super EBA, porém 3 dos 5 implantes de MTA estavam livres de inflamação. As células inflamatórias encontradas ao redor de cada implante eram predominantemente macrófagos e células gigantes. O tecido conjuntivo fibroso adjacente ao implante de Super EBA era mais fino que do implante de MTA. Conclui-se que os 2 materiais são biocompatíveis.

Em 1998, TORABINEJAD, PITT FORD, ABEDI, KARIYAWASAN e TANG examinaram a reação tecidual do implante de MTA, Amálgama, IRM e Super EBA nas tíbias e mandíbulas de porquinhos da Índia. Vinte porquinhos da Índia foram anestesiados, os retalhos teciduais foram elevados e foi feito um preparo cavitário ósseo. Os materiais testados foram colocados em dispositivos de Teflon e implantados nas tíbias e 10 dias depois nas mandíbulas. Os animais foram sacrificados 80 dias após o procedimento cirúrgico e o tecido foi preparado para examinação histológica. A presença de inflamação, tipo celular predominante e a espessura do tecido conjuntivo fibroso adjacente a cada material implantado foram registrados. A reação tecidual frente ao implante de MTA foi a mais favorável observada em ambos os sítios, como em qualquer modelo, ela estava livre de inflamação. Na tíbia, o MTA foi o material mais freqüentemente observado com aposição óssea. Baseado nesses resultados o MTA mostra ser um material biocompatível.

SAIDON; SAFAVI e SPANGBERG, também em 2002, realizaram implante de MTA e de cimento Portland em mandíbulas de cobaias. Após 2 e 12 meses foi verificado que o reparo ósseo tinha um infiltrado inflamatório mínimo adjacente a ambos os materiais, comprovando que esses materiais são bem tolerados quando implantados em cavidades ósseas.

Em outro experimento em 2002, REGAN; GUTMANN e WITHERSPOON avaliaram o potencial do MTA e Diaket em promover a regeneração tecidual perirradicular quando utilizados como materiais retrobturadores. Foram utilizados 7 cães, que depois de anestesiados tiveram os canais radiculares dos pré-molares inferiores limpos, modelados e obturados. A abertura coronária foi selada com IRM. Na mesma sessão foram feitas cirurgias parendodônticas nesses dentes, as cavidades retrógradas foram realizadas com pontas de ultra-som e tinham aproximadamente 1,0 a 1,5 mm de diâmetro e 1,5 a 2,0 de comprimento, elas foram seladas com os materiais em estudo. Sessenta dias após a cirurgia, os animais foram sacrificados e as peças contendo os dentes removidas e preparadas para análise microscópica. Cortes teciduais de 6 µm de espessura foram corados por Hematoxilina e Eosina e pelo Tricômico de Masson e examinados no microscópio de luz. As avaliações foram realizadas por 2 examinadores calibrados que davam escores de acordo com critérios pré-estabelecidos. Os resultados mostraram que não houve diferença estatística entre os materiais quanto à presença de inflamação e formação de abscesso. Houve grande quantidade de formação óssea associada aos materiais e também a formação de novo ligamento periodontal. A presença de cimento foi variável, houve casos onde o ápice radicular e os materiais retrobturadores foram completamente cobertos. Os autores concluíram que tanto o Diaket quanto o MTA podem auxiliar na completa regeneração do periodonto perirradicular quando utilizados como materiais retrobturadores em dentes desinfetados.

PITT FORD et al, também em 1995 realizaram 28 perfurações intencionadas em pré-molares inferiores de sete cães, com o propósito de avaliar a resposta do tecido perirradicular na região de furca. Metade dos dentes tiveram as perfurações seladas imediatamente com Amálgama e MTA e a outra metade, as perfurações foram contaminadas com saliva e deixadas abertas ao meio bucal por 6 semanas, para posteriormente serem seladas com Amálgama e MTA. Os animais foram sacrificados após 4 meses e, as peças, analisadas microscopicamente. Os resultados mostraram que os dentes selados imediatamente com Amálgama tiveram inflamação de moderada a severa

enquanto que com o MTA ocorreu formação de novo cimento em 5 de 6 dentes. Os dentes contaminados e selados com Amálgama mostraram áreas de inflamação e com o MTA, 3 estavam livres dela e 4 com áreas inflamadas. Concluiu-se que o MTA é mais conveniente que o Amálgama para reparo de perfurações, especialmente quando elas forem seladas imediatamente.

BERNABÉ et al (2002) demonstraram a superioridade do MTA frente ao IRM, Super EBA e OZE, quando empregados como materiais retrobturadores em dentes de cães portadores de lesão periapical. Após a realização da apicetomia, as retrocavidades foram preparadas com pontas de ultra-som e os materiais, aleatoriamente, preencheram as cavidades ficando rente à superfície apicetomizada. Após 180 dias, além da superioridade do MTA os autores relataram que esse material foi o único capaz de estimular a deposição de tecido mineralizado sobre si.

Em 1999 HOLLAND et al observaram a reação dos tecidos periapicais de dentes de cães, após obturação de canais com MTA. Foram utilizados 30 canais radiculares, os quais foram preparados biomecanicamente e obturados pela técnica da condensação lateral com cones de guta percha e MTA ou ionômero de vidro (Ketac Endo). Após 6 meses, verificaram que nos casos onde o cimento utilizado foi o MTA havia 100% de deposição de novo cimento na região periapical e nenhuma reação inflamatória. Já com o uso do Ketac Endo não houve deposição de cimento e em 2 casos houve extravasamento com intensa reação inflamatória.

MORANDI, também em 1999, realizou um experimento em dentes de cães portadores de lesões periapicais após apicetomia e obturação retrógrada convencional com MTA e cimentos à base de óxido de zinco e eugenol. Após 180 dias dos procedimentos operatórios, os autores relataram que o MTA, o Super EBA e o IRM apresentaram resultados microscópicos semelhantes e superiores aos cimentos de Óxido de zinco e eugenol. Entretanto, dos 3 materiais, o MTA foi o único que estimulou a deposição do tecido mineralizado junto a superfície apicetomizada e material retrobturador.

Em 2003, ECONOMIDES et al investigaram a resposta dos tecidos perirradiculares ao MTA num curto espaço de tempo. Foram utilizados 24 canais radiculares de 2 cães saudáveis. Esses canais foram obturados com guta percha e cimento. Na mesma sessão foram realizadas cirurgias parendodônticas e, o MTA e o IRM foram utilizados nas obturações retrógradas. Esse procedimento foi realizado nos cães por hemiarcada em períodos de tempo diferentes: 1, 2, 3 e 5 semanas. Após os períodos experimentais os animais foram sacrificados e as peças preparadas para análise microscópica. Os cortes teciduais foram corados por Hematoxilina e Eosina e avaliados em microscópio de luz, sendo que 2 canais selados com MTA por 2 e 3 semanas foram analisados em microscópio eletrônico de varredura. Os resultados mostraram que para o grupo do MTA a reação tecidual mais marcante após 1 semana foi a presença de tecido conjuntivo frouxo. Inflamação foi observada ocasionalmente e com o decorrer do tempo, sinais de reparação tecidual foram vistos, caracterizados por formação de tecido mineralizado. Em contraste, no grupo do IRM, foi observada inflamação de moderada a severa em 6 de 8 raízes e não foi observado formação de tecido mineralizado. Conclui-se que o MTA é um material biocompatível que estimula o reparo do tecido perirradicular, quando utilizado em retrobturações, entretanto, a natureza de um novo tecido formado necessita de futura elucidação.

Também em 1995, TORABINEJAD et al estudaram a resposta biológica dos tecidos periapicais de dentes de cães após apicetomia e obturação retrógrada com MTA ou Amálgama. Após um período de 2 a 5 semanas ou 10 a 18 semanas os animais foram sacrificados e as peças processadas para exame microscópio. Os tecidos periapicais de todas as raízes preenchidas com Amálgama apresentaram inflamação de moderada para severa e apenas um terço das raízes com MTA apresentou inflamação moderada. O infiltrado inflamatório encontrado adjacente ao Amálgama era predominantemente de PMN e leucócitos enquanto que adjacente ao MTA eram linfócitos. Não foi encontrado nenhum tecido capsular fibroso sobre o amálgama. Já no grupo do MTA, esse quadro microscópico ocorreu em 19 dos 21 espécimes. Não foram

observadas formação de cimento nos espécimes retrobturados com Amálgama enquanto que no grupo com MTA houve a formação de cimento em 1 das 11 amostras do período de 2 a 5 semanas e em 10 das 10 amostras do período de 10 a 18 semanas. Os autores relataram que o cimento reparador era depositado tanto na dentina exposta pelo seccionamento apical, reparando áreas de reabsorção, como também sobre o material retrobturador em estudo.

Em 2005, BAEK; Jr PLENK; KIM, compararam a resposta do tecido periapical e a regeneração do cimento frente à resposta de 3 materiais retrobturadores (Amálgama, Super EBA e MTA). Esses materiais foram colocados usando técnica microcirúrgica no tratamento endôntico de Pré-molares e Molares de 5 cachorros. Após 4 meses do procedimento cirúrgico os cachorros foram sacrificados e as peças cirúrgicas seguiram para a fase histológica. Após a fixação por 1 mês, os espécimes desmineralizados foram processados para embebição com monômero metilmetacrilato. Então, após 5 meses do procedimento cirúrgico, as células e a reação tecidual da seção de superfície corada não descalcificada foram avaliadas num microscópio e analisadas estatisticamente. A maior diferença nas respostas teciduais dos 3 materiais retrobturadores foram o grau de inflamação, o tipo de células inflamatórias, número de cápsulas fibrosas formadas, nova formação de cimento sobre esses materiais, cicatrização óssea e espessura do ligamento periodontal. O MTA mostrou a resposta do tecido periapical mais favorável com a neoformação de cimento sobre o MTA, o Super EBA foi superior ao Amálgama como material retrobturador.

Em 1997, TORABINEJAD et al avaliaram as respostas dos tecidos periapicais de dentes de macacos frente ao MTA e ao Amálgama de prata. Foram utilizados 12 dentes incisivos maxilares. Os dentes foram instrumentados e obturados com cones de guta percha e cimento, e as cavidades de acesso foram restauradas com amálgama. Procedeu-se a realização de apicetomias e o preparo das cavidades apicais. Metade dos dentes de cada animal foram retrobturados com amálgama e a outra metade com MTA. Após 5 meses os animais foram sacrificados e a resposta tecidual

perirradicular foi avaliada histologicamente. Dos 6 espécimes preenchidos com MTA, apenas um mostrou inflamação periapical severa. Em todos os 5 espécimes sem inflamação, havia uma camada de cimento sobre o MTA e fibras periodontais podiam ser observadas inseridas nesse cimento em alguns locais. Em contraste, todos os 6 espécimes preenchidos com Amálgama apresentaram inflamação periapical (2 moderada e 4 severa). As células inflamatórias mais comumente encontradas nesse grupo foram os linfócitos, facilmente observados próximos ao material. Foi observado cápsula fibrosa recobrimdo o material retrobturador. Não foi encontrado bactérias em nenhum dente de ambos os grupos. No local da loja cirúrgica, que foi realizada para permitir apicetomia, houve formação óssea nos 2 grupos.

Em 2001, HOLLAND et al observaram o processo de reparo em perfurações radiculares intencionais, seladas com MTA em dentes de 4 cães. Foram utilizados 48 dentes de cães, os quais foram instrumentados e obturados. Após a remoção parcial da obturação em nível cervical da raíz, foi feita uma perfuração radicular lateral com broca. As perfurações foram seladas com MTA e, como grupo controle, foi utilizado o Sealapex. Os cães foram sacrificados após 30 e 180 dias e os resultados não mostraram inflamação, mas sim depósitos de um novo cimento sobre o MTA, na maioria dos espécimes. Os resultados mostraram, aos 30 dias, 4 casos selados com MTA, com deposição de cimento sobre o material, um cimento neoformado muito fino e um ligamento periodontal livre de inflamação. Nos mesmos períodos, o Sealapex apresentou 6 casos com infiltração crônica e com pequenas áreas de anquilose. Aos 180 dias, 9 espécimes, entre 10, mostraram novo cimento sobre o MTA livres de inflamação, quando o Sealapex, no mesmo período, mostrou apenas 3 espécimes, entre 10, com novo cimento sobre o material. Portanto, o MTA apresentou melhores resultados que o grupo controle. Os autores concluíram que é possível que esse material ofereça um substrato biologicamente ativo à produção de células ósseas que estimulam a produção de interleucinas.

Em 2000, DUMSHA; HOLT avaliaram a biocompatibilidade do MTA ProRoot[®], do cimento ósseo e do Super EBA em caninos de 5 furões. Foram utilizados os 2 caninos inferiores de cada animal, estes receberam tratamento endodôntico convencional e tiveram os 3 mm radiculares apicais removidos. As cavidades retrógradas preparadas foram preenchidas com os materiais a serem testados. Após 6 semanas, os animais foram sacrificados, as peças foram removidas, radiografadas e preparadas para análise microscópica. A análise radiográfica mostrou neoformação óssea adjacente aos 3 materiais testados. Reação inflamatória moderada estava presente em todos os espécimes. Concluíram que os 3 materiais foram bem tolerados pelos tecidos periapicais e podem ser considerados bons materiais retrobturadores.

3.5. Avaliação do MTA realizada em estudos em humanos

Em 1996 ARENS e TORABINEJAD publicaram os primeiros casos clínicos em pacientes utilizando o MTA experimental. O primeiro foi de um paciente de 64 anos de idade apresentando perfuração de furca no primeiro molar inferior direito. O tratamento consistiu na irrigação do local da perfuração com Hipoclorito de Sódio a 2,5%, secagem com bolinhas de algodão e cones de papel e selamento da perfuração com MTA. Foi feita uma tomada radiográfica na qual foi constatado o extravasamento do material para o tecido periodontal, no entanto, o defeito estava bem selado. Foi feita proervação de 3 dias, 6 semanas, 3 meses, 6 meses e 1 ano onde foi observado uma quase completa redução da lesão radiolúcida na furca. O segundo caso clínico foi de um paciente de 13 anos de idade com perfuração de furca no primeiro molar inferior esquerdo. O local foi irrigado com Hipoclorito de Sódio a 2,5% e seco com bolinhas de algodão. Foi feito o selamento da lesão com MTA seguido pela intervenção cirúrgica dos canais radiculares apicais. A proervação foi de 7 dias, 3 semanas, 6 semanas, 12 semanas e aos 9 meses no qual foi notado um significativo reparo na área radiolúcida na furca. O tratamento cirúrgico foi realizado e as retrocavidades foram seladas com MTA. A proervação foi de 3, 6 e 12 semanas. Seis meses após a cirurgia o dente foi restaurado com uma coroa. Um ano depois, foi constatado, radiograficamente, um importante reparo

na região de furca e nos tecidos periapicais. Os autores concluíram que se nesses casos de perfurações de furca em seres humanos o selamento com MTA deu resultados positivos, é oportuna a sua utilização embora mais casos sejam necessários para sustentar a efetividade do MTA no reparo de perfurações radiculares de furca.

MAIN et al (2004) realizaram um estudo onde avaliaram o sucesso de tratamento de perfurações com MTA. Foram incluídos no estudo 60 casos clínicos provenientes do programa de residência. Foram avaliados o pré-tratamento, o imediato e sua preservação por 1 ano em estudo duplo cego. Para essa avaliação foram utilizadas radiografias periapicais, a fim de determinar a presença ou ausência de alguma patologia adjacente ao local da perfuração. Os resultados mostraram 16 casos de tecidos normais adjacentes ao local da perfuração. Dentes com lesão pré-existent tiveram resolução da lesão e dentes sem lesões pré-operatórias continuaram sem novas lesões. Segundo os autores, o MTA propicia um efetivo selamento das perfurações radiculares e permite um bom prognóstico para os dentes.

3.6. DiaRoot Bioaggregate

Em 2009, DE DEUS et al compararam os efeitos citotóxicos do Bioaggregate, um cimento com nanopartículas biocerâmicas, com o do MTA branco ProoRoot®. Cinquenta e seis incisivos superiores humanos foram submetidos à técnica de instrumentação ápice coroa e preparados para ensaio da citotoxicidade como modelo experimental de material retrobturador *in situ*. Depois da retrobturação, cada raiz contendo MTA, Bioaggregate ou canais radiculares vazios (controle) foi exposta ao meio de cultura por 24, 48 ou 72 horas disponibilizando diversos meios de extração. Células mesenquimais foram incubadas em cada extrato por 24 horas e a toxicidade foi avaliada por 3 parâmetros diferentes de sobrevivência celular e na integridade da mesma amostra. XTT, vermelho neutro e cristal violeta foram usados como corante. Não houve diferença significativa entre o MTA e o Bioaggregate em todos os períodos experimentais. Os autores concluíram que o DiaRoot Bioaggregate apresentou compatibilidade *in vitro* semelhante ao MTA.

Em 2009, Zhang et al avaliaram *in vitro* a eficácia antimicrobiana do Bioaggregate fresco em pó e do MTA em pó com *Enterococcus faecalis*. O efeito antimicrobiano dos cimentos misturados com quantidades iguais de dentina humana em pó também foi testado. O pó do Bioaggregate e do MTA foi igualmente eficaz na eliminação bacteriana e causou uma diminuição significativa na viabilidade bacteriana em 6 minutos. O pó do cimento esmagado foi tão ou mais eficaz que o fresco para matar bactérias. A adição de quantidades iguais de dentina em pó (frescos e esmagados) resultou na eliminação mais rápida de bactérias.

Em 2010, YUAN et al investigaram a citotoxicidade do Bioaggregate em minerais associados a expressão genética nos osteoblastos. A expressão do mineral associado ao gene (colágeno tipo I, osteocalcina e osteopontina) foi avaliada pelo tempo real quantitativo da reação em cadeia da polimerase e comparada à expressão após exposição do Bioaggregate ou MTA. Pode-se concluir que o Bioaggregate parece ser um novo material retrobturador atóxico capaz de induzir a expressão de genes associados à mineralização de células osteoblásticas.

Também em 2010, PARK et al avaliaram um novo produto (Diaroot[®] Bio Aggregate) que foi formulado para ser utilizado como material retrobturador, em preenchimento de perfuração radicular e em capeamento pulpar. Esse estudo avaliou a diferença química entre o MTA branco e o DiaRoot[®] Bioaggregate em ambas as formas salpicada e fixada usando a difração de raio X. Os resultados mostraram que o MTA branco e o DiaRoot[®] Bioaggregate tem uma composição química parecida, mas com algumas diferenças: O DiaRoot[®] Bioaggregate contém uma amostra significativa de óxido de tantalho (Ta) em vez de óxido de bismuto. Em ambos os grupos, pontas similares foram observadas nas formas salpicadas e fixadas, mas nas amostras salpicadas as pontas eram mais afiadas e mais fortes.

Ainda em 2010 YAN et al Investigaram a citotoxicidade do Bioaggregate em fibroblastos do ligamento periodontal humano e seu efeito na diferenciação de

fibroblastos do ligamento periodontal e compararam sua resposta com a do MTA. A influência do Bioaggregate e do MTA na diferenciação dos fibroblastos humanos no 3^o, 5^o e 7^o dia foi avaliada pela expressão genética da fosfatase alcalina e do colágeno tipo I pelo tempo real quantitativo da reação em cadeia da polimerase. O número de células no grupo do Bioaggregate foi similar ao do grupo controle através do período de cultura no qual o MTA suprimiu a proliferação de fibroblastos. A expressão genética da fosfatase alcalina foi significativamente superior no grupo do Bioaggregateno no 7^o dia embora isso acontecesse com o MTA no 3^o dia. A expressão genética do colágeno tipo I foi induzida por ambos Bioaggregate e MTA comparado ao grupo controle. Pode-se concluir que O Bioaggregate foi atóxico aos fibroblastos do ligamento periodontal humano e parece induzir a diferenciação dos fibroblastos humanos.

4. Materiais e métodos

4.1. Animais

A seleção da amostra desse estudo consistiu em 25 ratos Wistar adultos (300g e 500g) do sexo masculino cedidos pelo Biotério Central da Universidade Federal Fluminense – NAL – Núcleo de Animais de Laboratório. Eles receberam água “*ad libitum*” e foram mantidos em ciclo de luz natural. A manipulação e procedimentos com os animais obedeceram aos princípios da Comissão de Avaliação do Uso de Animais em Pesquisa do Comitê de Ética da Universidade Federal Fluminense sob o número de protocolo 0097/09. Os procedimentos cirúrgicos foram realizados no laboratório de Farmacologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ.

4.2. Materiais e substâncias:

Os materiais retroobturadores testados foram: ProRoot MTA - Dentsply Tulsa Dental, iRoot PP - Injectable Root Canal Sealer, Ceramicrete - Dentsply Tulsa Dental e DiaRoot BioAggregate - Diadent-Made in Canadá

Foi usado em todos os experimentos Solução Salina Fisiológica (PSS) – Composição em (mM): NaCl (135,0), KCl (5,0), MgCl₂ (1,0), NaH₂PO₄ (1,0)

4.3. Procedimentos cirúrgicos e preparo dos animais

Após pesagem e anti-sepsia com aplicação tópica local de álcool iodado a 0,1% foi realizada a anestesia geral por administração intraperitoneal de Tiopental (40mg/Kg) e Xilasina (2,5 mg/Kg) e, posteriormente, anestesia local com lidocaína 2% com adrenalina (DFL Indústria e Comércio S.A.). A administração de anestésico local na região mandibular teve como finalidade a hemostasia e analgesia.

Após a tricotomia da região mandibular do lado direito, foi realizada incisão no tecido com lâmina de bisturi nº15 (Figura 1). O retalho foi rebatido, o músculo dissecado e o osso mandibular exposto (Figura 2). Foi criado um

defeito ósseo com uso de broca carbide nº6 (FG Microdont), acoplada em micromotor elétrico (LB 100 Beltec – Indústria Comércio Equipamentos Odontológicos Ltda ME) sob constante irrigação com soro fisiológico estéril acondicionado em uma seringa descartável. A dimensão da cavidade óssea foi de 2 mm de diâmetro e 2 mm de profundidade.

As cavidades ósseas foram secas com cones de papel absorvente nº 30 (Dentsply Tulsa Dental). Os materiais retrobturadores foram manipulados de acordo com as recomendações dos fabricantes e introduzidos no interior das cavidades preparadas na mandíbula dos animais logo após sua manipulação com auxílio de uma espátula de inserção nº 1 (SSWHITE/ Duflex) (Figura 3) e calcadores endodônticos de Paiva (Erwin Guth). O tempo de presa de cada material foi respeitado e o retalho foi suturado com fio de seda 4.0 (Figura 4).

Para diminuir o risco de infecção e o sofrimento animal foi administrado Benzetacil (600.000 UI) por via intraperitoneal.



Figura 1 – Fotografia digital do animal após tricotomia e incisão extraoral do lado direito em região de mandíbula.

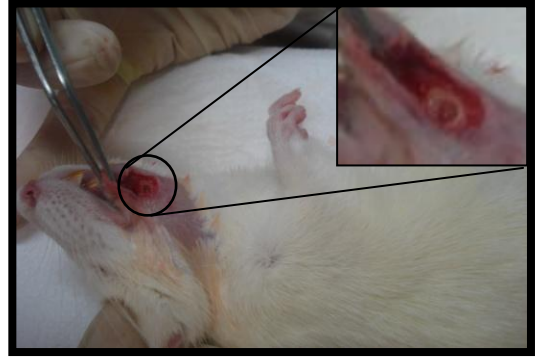


Figura 2 – Fotografia digital após a incisão e rebatimento do retalho. No detalhe exposição da cavidade óssea.



Figura 3 – Fotografia digital mostrando defeito ósseo preenchido com o biomaterial.



Figura 4 – Fotografia digital da sutura realizada após o procedimento cirúrgico.

4.4. Grupos Experimentais

Os animais foram divididos em cinco grupos experimentais e cada grupo foi composto por 5 animais. Os animais receberam os tratamentos da seguinte maneira: O primeiro grupo de ratos (G1) teve sua cavidade óssea preenchida com MTA branco (controle positivo), o segundo (G2) com Ceramicrete, o terceiro (G3) com DiaRoot Bioaggregate, o quarto (G4) com iRoot PP e o quinto (G5) teve sua cavidade mantida vazia servindo como controle negativo (animais sham). Depois do implante dos materiais nas mandíbulas, os animais foram mantidos em observação até a completa recuperação da anestesia geral. Foram realizadas avaliações clínicas semanais onde foi observado perda de peso e cicatrização da ferida cirúrgica.

Após 60 dias, os animais foram sacrificados com a aplicação de dose letal de Tiopental, as mandíbulas foram dissecadas e seccionadas em blocos que

respeitaram o defeito ósseo criado e margem de segurança de 3 mm ao redor do defeito (Figura 5). Os blocos foram fixados em Formol tamponado a 10% por 48 horas e seguiram para análise histomorfológica.

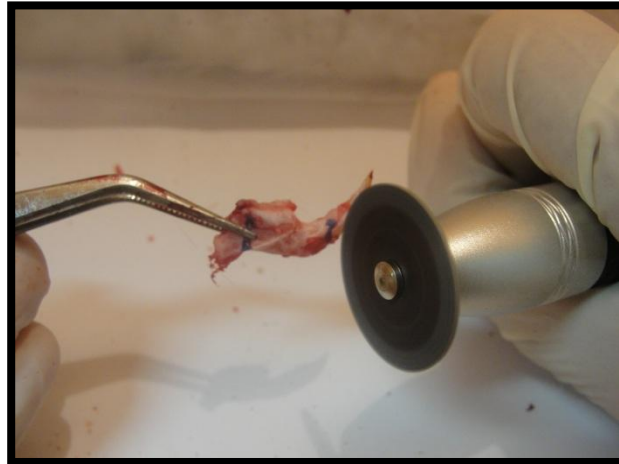


Figura 5 – Fotografia digital do preparo do bloco de mandíbula após dissecação.

4.5. Análise morfológica

Os blocos seccionados foram colocados em água destilada por 1 hora (tendo o propósito de diminuir a concentração de formol), lavados em água corrente, desmineralizados em EDTA 17% (MARCA), desidratados em álcool, embebidos em parafina, seccionados seriadamente em 5 μ m no micrótomo e corados com Hematoxilina e Eosina.

Com objetivo de se avaliar a reação inflamatória, o tipo de tecido adjacente ao material retrobturador implantado, a presença de inflamação e o tipo celular predominante próximo a cada material implantado foram examinados por microscopia óptica e registrados por 2 examinadores que desconheciam qual foi o tipo de material implantado no osso.

4.6. Análise Estatística

Os grupos experimentais foram compostos por no mínimo 5 animais. Os resultados foram expressos como média da quantificação das células inflamatórias presentes na análise morfológica das lâminas \pm desvio padrão, tendo como parâmetro de análise 10 campos de grande aumento (400X). Os resultados foram expressos em tabelas e gráfico. A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa Sigma-Stat (10.0 Jandel Corporation). Os resultados foram analisados com os testes de análise de variância (ANOVA) e complementados pela análise paramétrica (t-STUDENT). Foram considerados significativos os resultados com intervalo de confiança de 95% onde $p < 0,05$.

5. Resultados

5.1. Análise morfológica das mandíbulas

Após 60 dias do procedimento cirúrgico, todos os ratos foram sacrificados e as mandíbulas preparadas para análise morfológica.

No controle negativo os animais *sham* tiveram as cavidades ósseas criadas sob as mesmas condições cirúrgicas dos demais grupos experimentais, mas neste caso, os defeitos ósseos permaneceram vazios. Dessa forma foi possível avaliar a resposta tecidual em consequência do procedimento cirúrgico sem a interferência cicatricial dos biomateriais implantados.

Todos os animais que tiveram as sua cavidades seladas com MTA apresentaram clinicamente e histologicamente neoformação óssea (Figura 6).

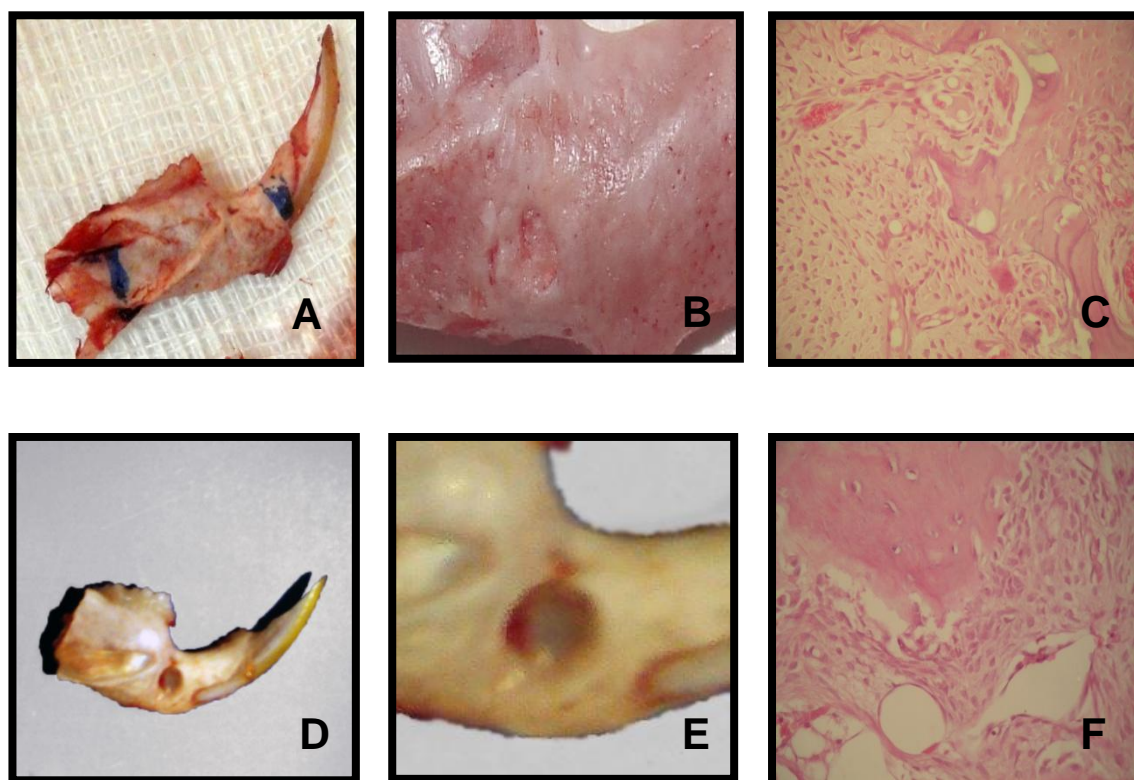


Figura 6 – Avaliação morfológica das mandíbulas de ratos dos grupos controle: positivo (MTA – A, B e C) / negativo (animal *sham* – D, E e F)

Em A e D: Visão panorâmica da mandíbula dissecada após 60 dias do procedimento cirúrgico. Em A, observa-se as delimitações e padronização do bloco ósseo respeitando o defeito criado e as margens de segurança (3 mm) ao redor do defeito. Em B: Imagem aumentada (5X) onde observamos clinicamente a mineralização na região do defeito ósseo após a inserção do MTA (controle positivo). Em C: Corte histológico mostrando presença de vaso congestão e osteoblastos e ausência de células inflamatórias e de tecido fibroso (400X). Em E: Imagem aumentada (5X) do defeito ósseo nos animais *sham* após 60 dias do procedimento cirurgico. Em F: Corte histológico onde se observa presença de tecido fibroso, fibroblastos e pouquíssimos osteoblastos, ausência de colágeno e de células inflamatórias (400X).

A observação clínica das mandíbulas dos animais que tiveram suas cavidades seladas com o Ceramicrete constatou mineralização do defeito ósseo. No entanto, as margens entre o material e a borda da cavidade óssea estavam delimitadas e visíveis (Figura 7).

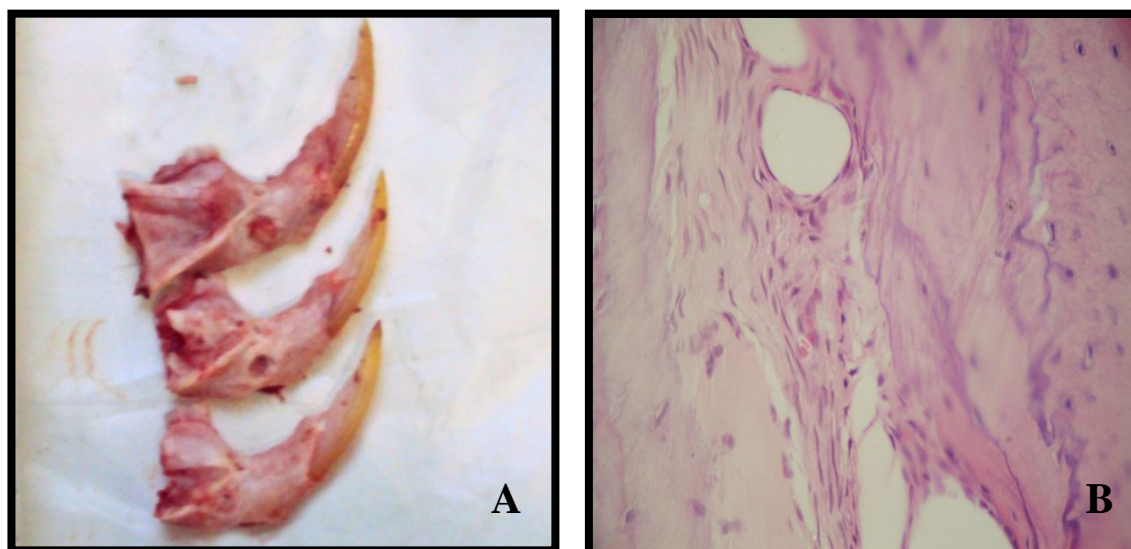


Figura 7 – Avaliação morfológica das mandíbulas de ratos preenchidas com Ceramicrete

Em A: Fotografia digital mostra mandíbulas dissecadas e removidas em visão panorâmica após 60 dias do procedimento cirurgico. Os defeitos ósseos foram preenchidos com o biomaterial Ceramicrete. Clinicamente houve formação de tecido mineralizado na região dos defeitos ósseos criados embora os mesmos tenham ficado visíveis e delimitados. Em B: Corte histológico mostrando ausência de osteoblasto e de células inflamatórias, presença de fibroblastos, tecido fibroso e colágeno (400X).

O DiaRoot Bioaggregate apresentou resultados clínicos similares ao Ceramicrete, onde foi observado tecido mineralizado a sondagem embora as delimitações da cavidade óssea estivessem visíveis. Na avaliação histológica observou-se a presença de leucócitos polimorfonucleados e hemácias no interior dos vasos sanguíneos (Figura 8).

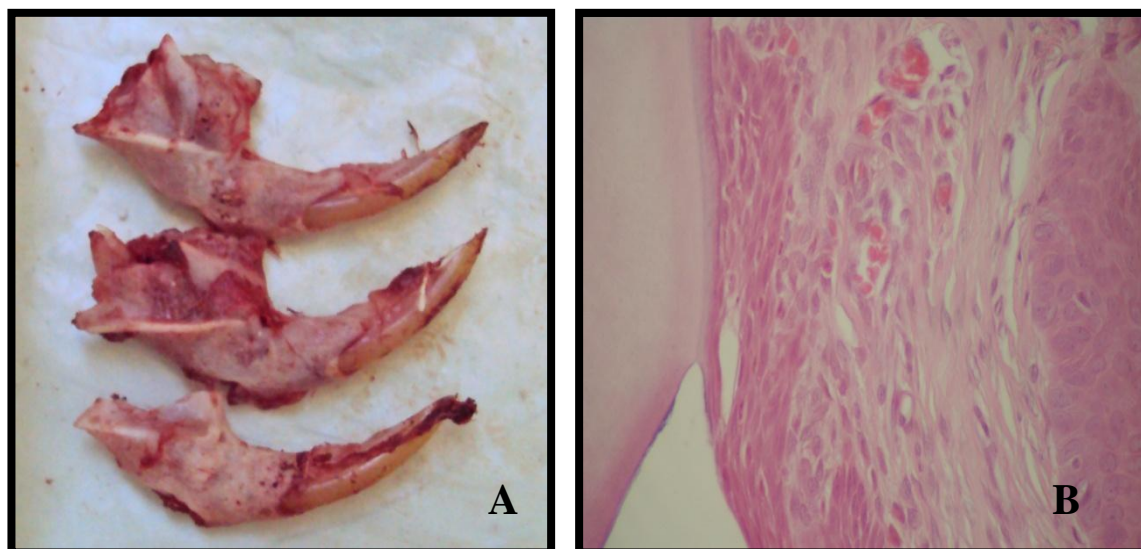


Figura 8 – A análise morfológica das mandíbulas de ratos preenchidas com DiaRoot Bioaggregate. Em A: Fotografia digital onde observamos visão panorâmica das mandíbulas dos ratos as quais tiveram os defeitos ósseos preenchidos com Diaroot Bioaggregate. Nota-se tecido mineralizado mas as delimitações do defeito ósseo ainda são visíveis clinicamente. Em B: Corte histológico mostrando presença de vaso congestão e células inflamatórias crônicas (macrófagos) e aguda (PMN) (400X).

A inserção do biomaterial iRoot PP foi realizada com muita facilidade. Após o tempo de tratamento (60 dias), clinicamente, o material não se encontrava aderido a cavidade óssea formando um halo de possível infiltração marginal. O tecido mineralizado e rígido a sondagem encontrava-se preenchendo parte do defeito ósseo e apresentava coloração castanha escuro.

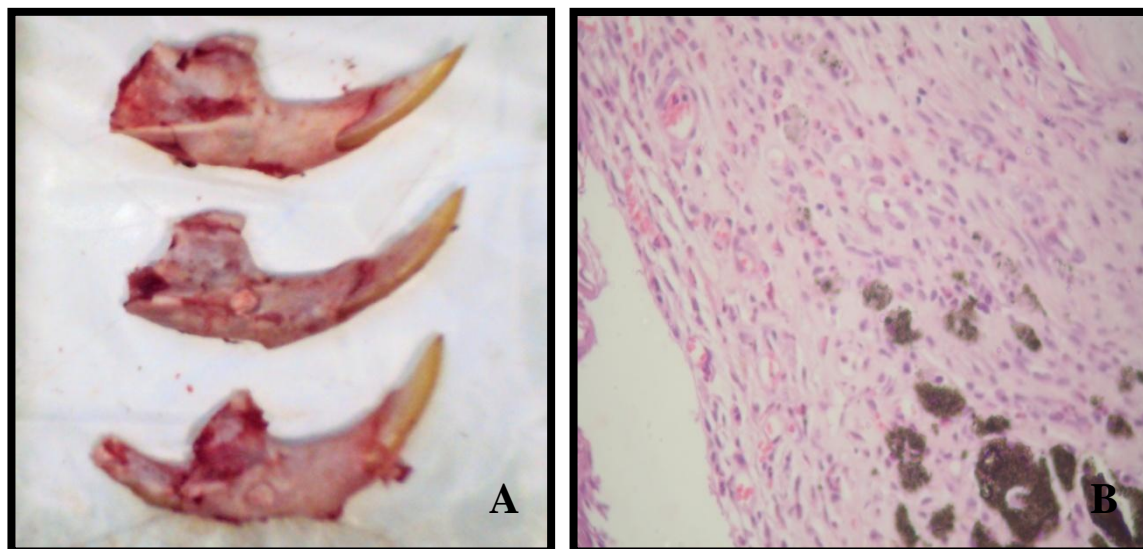


Figura 9 – A análise morfológica das mandíbulas de ratos preenchidas com iRoot PP. Em A: Fotografia digital com visão panorâmica das mandíbulas preenchidas com iRoot PP. Clinicamente notou-se mineralização do tecido ósseo mas também observou-se que o biomaterial não estava completamente aderido ao osso. Em B: Corte histológico mostra presença de vaso congestão, células PMN e eosinófilos, ausência de osteoblasto e de colágeno (400X).

5.2. Avaliação quantitativa e qualitativa das células inflamatórias

A análise morfológica das lâminas preparadas a partir das mandíbulas dos animais tratados e dos animais dos grupos controle foi analisada qualitativamente, classificando o tipo de célula inflamatória que participou da resposta tecidual. Na análise quantitativa o número de células por campo foi registrado de forma subjetiva tendo como parâmetro de observação 10 campos por lâmina (Tabela 1).

Tabela 1 – Análise quantitativa e qualitativa das células inflamatórias.

AMOSTRA	CÉLULAS INFLAMATÓRIAS	LOCAL DAS CÉLULAS INFLAMATÓRIAS			TIPOS DE CÉLULAS INFLAMATÓRIAS				
		PVascular	PAnexial	PARtefato	LINFÓCITOS	PLASMÓCITOS	MACRÓFAGO	NEUTRÓFILO	EUSINÓFILO
DiaRoot 01	+	0	0	+	+	+	0	+	0
DiaRoot 02	+	0	0	+	+	+	0	0	0
DiaRoot 03	+	0	0	+	+	+	+	+	0
DiaRoot 04	++	0	0	++	+	+	+	0	0
DiaRoot 05	++	0	0	++	+	+	+	0	0
Ceramicrete 01	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ceramicrete 02	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ceramicrete 03	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ceramicrete 04	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ceramicrete 05	0	0	0	0	0	0	0	0	0
iRoot PP 01	++	0	0	++	+	+	0	+	0
iRoot PP 02	++	0	0	++	+	+	+	+	0
iRoot PP 03	++	0	0	++	++	+	+	++	+
iRoot PP 04	+++	0	0	+++	++	++	+	+++	+++
iRoot PP 05	+++	0	0	+++	++	++	+	+++	++
MTA 01	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MTA 02	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MTA 03	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MTA 04	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MTA 05	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sham 01	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sham 02	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sham 03	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sham 04	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sham 05	0	0	0	0	0	0	0	0	0

A amostra refere-se aos biomateriais implantados nas mandíbulas dos ratos, onde temos DiaRoot Bioaggregate, Ceramicrete, iRoot PP e os controles positivo MTA e controle negativo animais *sham*. As células inflamatórias, sua localização e os tipos celulares foram representados de acordo com: (0) Ausência de células inflamatórias; (+) Até 05 células inflamatórias por campo; (++) 06 a 09 células inflamatórias por campo; (+++) Mais de 10 células inflamatórias por campo.

Como o método quantitativo e qualitativo utilizado na análise morfológica era subjetivo foi criado um *score* numérico para cada resultado o que permitiu a comparação paramétrica e tratamento estatístico. Os resultados foram expressos em gráfico com a média e o desvio padrão, de acordo com: (0) Ausência de células inflamatórias = 0; (+) Até 05 células inflamatórias por campo = 1; (++) 06 a 09 células inflamatórias por campo = 2; (+++) Mais de 10 células inflamatórias por campo = 3 (Figura 10).

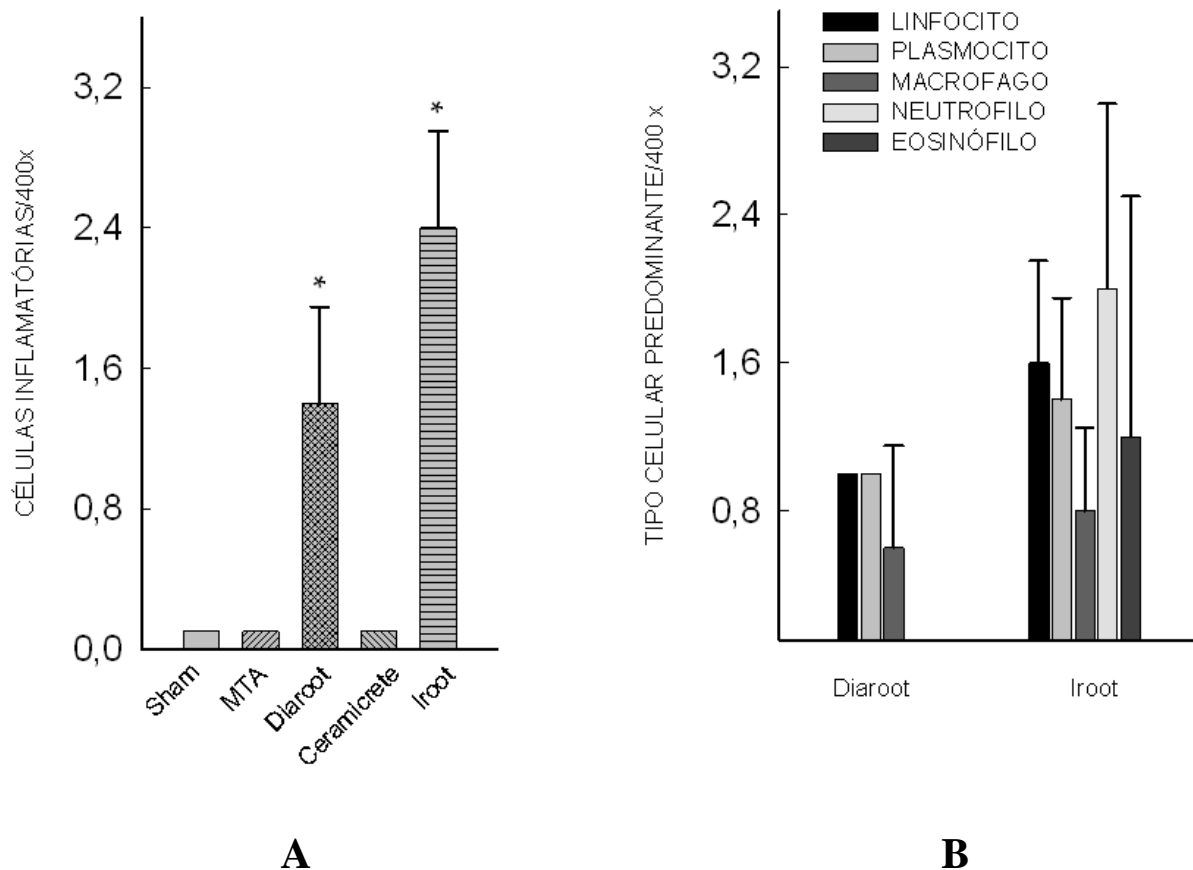


Figura 10 – Representação gráfica da análise quantitativa e qualitativa das células inflamatórias após 60 dias de tratamento com os biomateriais.

Em A: Média aritmética e desvio padrão das células inflamatórias observadas por biomaterial ($p < 0,05$). Em B: Tipo celular predominante para os biomateriais que apresentaram diferença significativa em número de células inflamatórias quando comparados aos controles negativo e positivo.

6. Discussão

Os roedores, coelhos, cães ou babuínos são animais utilizados em pesquisa científica como modelo experimental que pode representar o sistema orgânico dos mamíferos. Roedores são utilizados em pesquisas odontológicas a fim de investigar as propriedades biológicas dos materiais dentários. Esses modelos *in vivo* correspondem às etapas preliminares aos ensaios clínicos em humanos (BORTOLUZZI, 2005). Embora, atualmente, valorize-se modelos não-animais para pesquisa, ensino e testes, esses modelos, muitas vezes, não conseguem representar com precisão a complexidade do corpo humano, sendo necessário o uso de animais vivos. Mais de 95% das pesquisas biomédicas com animais vivos concentra-se hoje na utilização de ratos e camundongos que guardam analogia do DNA com o humano e causam menor rejeição na população quando comparadas com a utilização de outros animais domésticos ou de fazenda.

Foi utilizado nesses estudos ratos Wistar por agregarem as seguintes características: são animais de fácil manuseio, baixo custo para manutenção e não requerem doses altas de medicamentos. A escolha do sexo masculino baseou-se em excluir de nossos resultados a possível influência dos hormônios sexuais femininos, estrogênio e progesterona, na regeneração do tecido ósseo.

Nesse trabalho opto-se pela implantação intra-óssea dos biomateriais na mandíbula dos animais. Os materiais foram implantados diretamente no defeito ósseo criado evitando o uso de tubos de teflon diferente do realizado por Bhambhani e Bolanos em 1993 e Torabinejad et al em 1995. A escolha da mandíbula para implantação dos materiais a serem testados simulou as condições clínicas pós operatórias de um osso móvel, a mastigação assim como, a presença de flora bacteriana fisiológica da cavidade oral.

O modelo experimental foi reproduzível em todos os ensaios. O período do sacrifício dos animais ocorreu 60 dias após o procedimento cirúrgico. O tempo

médio para que haja resposta tecidual à um trauma cirúrgico na cavidade oral ocorre em cerca de 40 dias. (LANG, BECKER e KARRING, 1997) Antes deste período dificilmente seria possível a análise morfológica de células que participassem do processo inflamatório crônico. Porém, o prolongamento no tempo de eutanásia dos animais além de 60 dias poderia implicar em cicatrização completa do tecido ósseo, sem que as fases aguda e crônica da resposta inflamatória fossem caracterizadas.

O MTA é material biocompatível conforme mostraram Torabinejad et al em 1998, Dumsha e Holt em 2000, Moreton em 2000, Economides et al em 2003, Coutinho – filho em 2008, e apresenta menor índice de infiltração marginal quando comparado com outros materiais (LEE et al em 1993, TORABINEJAD et al em 1994, BATES et al em 1996, FISHER et al em 1998, NAKATA et al em 1998, DALÇOQUIO et al em 2001). Características como a insolubilidade nos fluidos teciduais (TORABINEJAD, MAC DONALD e PITT FORD em 1995, AQRABAWI em 2000), a propriedade de induzir a formação óssea (TORABINEJAD et al em 1995, TORABINEJAD et al em 1998, MORANDI em 1999 e REGAN em 2002) e a adaptação e selamento marginal adequada (TORABINEJAD et al em 1995,) fez com que o MTA fosse o material eleito para controle positivo.

Qualquer procedimento cirúrgico representa um trauma tecidual e, por si só, já seria responsável pelo início da resposta inflamatória. Desta forma, como controle negativo foi utilizado animais sham. Esses animais foram submetidos as mesmas condições operatórias dos demais animais utilizados nesse experimento, mas neste caso, os defeitos ósseos criados em mandíbula permaneceram vazios. O rebatimento do tecido e a sutura foram realizados após ser observado presença de coágulo nas cavidades. Os resultados da análise morfológica caracterizaram a presença de fibroblastos, mas não de colágeno. Pode-se sugerir que após 60 dias o processo cicatricial não foi completo. Foi observado presença de poucos osteoblastos na região do defeito cirúrgico, o que poderia representar um viés ocorrido durante o preparo das lâminas histológicas. A presença destas células na cavidade óssea poderia ter

ocorrido em razão do uso de broca para a confecção do defeito ósseo e não necessariamente caracterizam neoformação deste tecido. A quantidade dessas células não foi significativa nas demais análises.

Os resultados corroboram com dados da literatura nos quais descrevem o MTA como um material biocompatível e indutor de neoformação óssea (TORABINEJAD et al em 1995 e TORABINEJAD et al em 1998 e MORANDI em 1999). Na análise morfológica das mandíbulas dos animais que tiveram as cavidades preenchidas com o MTA observou-se vaso congestão, ausência de células inflamatórias e presença maciça de osteoblastos. Este fato confirma que o tecido mineralizado e rígido a sondagem clínica, imediatamente após a dissecação da mandíbula, era tecido ósseo regenerado.

O Ceramicrete é um material novo, ainda não disponível para a comercialização no Brasil e difere do MTA por apresentar partículas cerâmicas em sua composição, segundo contato verbal com o fabricante do produto (Dentsply Tulsa Dental). A análise morfológica confirmou que em função da presença de fibroblastos e colágeno pode-se sugerir que houve cicatrização tecidual do defeito ósseo. No entanto, embora clinicamente fosse observado tecido mineralizado e duro nesta região, não se pode afirmar que era osso neo formado. Essa consideração baseia-se no fato de que os resultados histológicos analisados no tempo de 60 dias após o procedimento cirúrgico, não foram conclusivos em qualificar e quantificar a presença de osteoblastos como vistos nos resultados obtidos com o MTA. Como os resultados morfológicos sugerem ausência de hemácias no interior dos vasos, e ausência de células inflamatórias, possibilitam uma futura análise deste biomaterial, sob as mesmas condições operatórias, mas após um tempo maior (Ex.90 dias) para a análise histológica.

O DiaRoot Bioaggregate é um cimento com nanopartículas biocerâmicas. Seus resultados caracterizaram, na análise morfológica, presença de congestão vascular e de células que participam da resposta inflamatória. Foi observado, mesmo após o período de 60 dias do ato cirúrgico, um número

significativo de leucócitos polimorfonucleares que caracterizam a fase aguda desta resposta. Como também foi observada a presença maciça de macrófagos em outros quadrantes do defeito ósseo, pode-se sugerir que ocorreu igualmente, resposta inflamatória crônica. Houve diferença significativa em relação à quantidade e tipo celular predominante quando comparados com os resultados obtidos com o MTA (Figura 10), diferente do estudo *in vitro* realizado por De Deus et al (2009) em que o DiaRoot Bioaggregate apresentou compatibilidade semelhante ao MTA. Clinicamente, a sondagem do defeito ósseo sugeriu mineralização, no entanto esta mineralização não foi confirmada após os estudos histológicos discordando do trabalho de Yuan et al (2010) em que esse biomaterial foi capaz de induzir a expressão dos genes associados as células osteoblásticas. Nos resultados com o DiaRoot não havia osteoblastos e, portanto, não ocorreu neste tempo regeneração óssea.

O iRoot PP foi o material de maior facilidade de manipulação e de inserção nos defeitos ósseos. Seguindo o protocolo experimental, após os 60 dias do procedimento cirúrgico, as mandíbulas foram analisadas clinicamente. O exame clínico do defeito ósseo preenchido com esse biomaterial mostrou que o mesmo não estava aderido as margens da cavidade óssea, encontrando-se solto na luz desta cavidade. Noto-se que embora, o material tenha tomado presa, ele retraiu e diminuiu de volume. Adicionalmente, em 50% das mandíbulas analisadas clinicamente o iRoot PP soltou-se da cavidade após a dissecação e preparo do bloco ósseo. Na região do defeito cirúrgico permaneceu um espaço parcialmente vazio, mineralizado e de coloração castanha escura. Morfologicamente, mesmo após os 60 dias de experimentação, observou-se vaso congestão e inflamação aguda (presença de leucócitos polimorfonucleares). O número significativo de eosinófilos sugere que, além da inflamação aguda, houve hipersensibilidade tecidual. Em humanos esta condição poderia sugerir potencial alergênico do biomaterial. Os resultados comparativamente com o MTA sugerem que pela ausência de colágeno e osteoblastos não houve cicatrização ou regeneração óssea.

7. Conclusão

- O estudo experimental *in vivo*, utilizando ratos e confecção de defeito ósseo em mandíbula para a implantação de biomateriais foi passível de reprodução e permitiu a cicatrização e a regeneração dos tecidos moles e duros na cavidade oral;
- O tempo de eutanásia de 60 dias após o procedimento cirúrgico em mandíbulas de ratos permitiu caracterizar nas análises histológicas as fases aguda e crônica da resposta inflamatória de mamíferos. Neste mesmo tempo o controle positivo com MTA reproduziu dados da literatura confirmando sua propriedade em induzir a neoformação óssea;
- O Ceramicrete (Dentisply Tulsa) permitiu a cicatrização tecidual mas não a regeneração do tecido ósseo. Após o tempo de 60 dias do ato cirúrgico, não foi observado nos estudos histológicos, resposta inflamatória aguda ou crônica;
- A análise morfológica do DiaRoot BioAggregate (Diadent – Canadá) sugere resposta inflamatória aguda (presença de PMN) e crônica (presença de macrófagos e outras células) na região do defeito ósseo. Não houve neoformação óssea, regeneração ou cicatrização tecidual;
- O iRoot PP (Injectable Root Canal Sealer) causou hipersensibilidade tecidual (presença eosinófilos). Os estudos morfológicos sugerem resposta inflamatória aguda (PMF), ausência de cicatrização ou regeneração óssea.

8. Referências bibliográficas

Alhadainy HÁ. Root perforations: a review of literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*.1994;78(3):368-74.

American Dental Association – Council on Dental Materials and Devices of the American Dental Association. *J Mmer Dent Assoc*,1972; 84:375-95.

American National Standards / American Dental Assiciation. **Document nº41 recommended standard practices for biological evaluation of dental materials**. New York, ANSI/ADA, 1992.

Aqrabawi J. Sealing ability of amalgam, Super EBA cement and MTA when used as retrograde filling materials. *Br Dent J*, 2000;188(5):266-8.

Arens DE, Torabinejad M. Repair of furcal perforations with mineral trioxide aggregate – two cases reports. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1996; 82(1):84-8.

Avellar IC. et al. Capacidade de selamento de materiais utilizados em perfurações radiculares laterais. *Braz Oral Res*, 2002; 16:35.

Baek SH, Plenk Jr H, Kim S. Periapical tissue responses and cementum regeneration with Amalgam, SuperEBA, and MTA as root-end filling materials. *JOE*, 2005; 31(6):444-9.

Bates CF, Carnes DL, Del Rio CE. Longitudinal sealing ability of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *J Endod*,1996; 22(11):575-8.

Bernabé PFE. e al.Comparative study of MTA with other materials in retrofilling of pupless dog's teeth. *J Endod*, 2002.

Bhambhani MS, Bolanos RO. Tissue reactions to endodontic materials implanted in the mandibles of guinea pigs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1993; 76(4):493 – 501.

Bortoluzzi EA. **Avaliação da reação do tecido subcutâneo de ratos à implantação dos cimentos MTA e Portland brancos acrescidos de radiopacificadores.** Tese de Mestrado, São Paulo, Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo. 2005. 203p.

Bramante CM, Berbet A, Bernardinlei N, et al. **Acidentes e complicações no tratamento endodôntico: soluções clínicas.** 2 ed. São Paulo, Ed. Santos, 2004.

Brandão RM, Saba TR, Fidel AS. et al. Selamento das perfurações de furca através do ProoRoot MTA e do MTA Angelus. *Bras Oral Res*, 2002; 16:176.

Caicebo R. et al. Sealing capacity of Super EBA, Proo Root MTA, Diaket in the repair of root perforation. *J Endod*, 2000; 26(9):553.

Coutinho Filho T, Deus G.; Klein L. Radiopacity and histological assessment of Portland cement plus bismuth oxide. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2008;106(6):69-77.

Dalçóquio C. et al. Selamento apical após retrobturações com MTA, IRM, ionômero de vidro e cianocrilato. *Rev Ass Paul Cir Dent*, 2001; 55(3):194-8.

Deus G, Canabarro A, Alves G et al Optimal cytocompatibility of a bioceramic nanoparticulate cement in primary human mesenchymal cells. *JOE*. 2009; 35 (10):1387-90.

Dumsha TC, Holt GM. Biocompatibility of bone cement, ProoRoot, and Super EBA in ferret canines. *J Endod*, 2000; 26(9):554.

Economides N, Pantelidou O, Kokkas A, Tziafas D. Short-term periradicular tissue response to mineral trioxide aggregate (MTA) as root-end filling material. *Int Endod J*, 2003; 36(1):44-8.

Faileiros FCB, Tanomaru JMG, Tanomaru Filho M. Avaliação do selamento e extravasamento de materiais utilizados em perfurações de furca. *Braz Oral Res*. 2002; 16:37.

Ferris DM, Baumgatner JC. Perforation repair comparing two types of mineral trioxide aggregate. *J Endod*, 2004; 30(6):422-4.

Fischer EJ, Arens DE, Miller CH. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as compared with zinc-free amalgam, intermediate restorative material and Super EBA as a root-end filling material. *J Endod*, 1998; 24(3):176-9

Gomes CC, Accetta RF, Camões ICG, Freitas LF, Pinto SS. Análise da adaptação marginal de materiais retrobturadores. *Pesq Bras Odontoped Integr*, João Pessoa, 2009; 9(1):31-5.

Holland R, Otoboni Filho JA, Souza V et al. Mineral trioxide aggregate repair of lateral root perforations. *J Endod*, 2001; 27(4):281-4.

Holland R, Souza V, Nery MJ et al et al. Reaction of dog's teeth to root canal filling with mineral trioxide aggregate or a glass ionomer sealer. *J Endod*, 1999; 25(11):728-30.

Hong C.U. et al. Healing of furcal lesions repaired by amalgam or mineral trioxide aggregate. *J Endod*, 1994; 20(4):197.

International Organization for Standardization. **ISO 7405**: dentistry-preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry – test methods for dental materials. Genève, ISO, 1997.

Kvinnslund I et al. A clinical and roentgenological study of 55 cases of root perforations. *Int Endod J*,1989;22(2):75-84.

Lang PN, Becker W, Karring T. Formação de tecido ósseo alveolar In Lindhe J. Tratado de Periodontia Clínica e Implantodontia Oral. 3 ed,Guanabara Koogan,1997: 665-89.

Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for reappear of lateral root perforations. *J Endod*,1993;19(11):541-4.

Lemon RR, Torabinejad M. Procedural Accidents In: TORABINEJAD, M; WAITON, RE. **Principle and practice of endodontics**. 3ed, Philadelphia, Saunders, 2002; 310-330p.

Lotfi M, Vosoughhosseini S, Ali Saghiri M. Effect of White mineral trioxide aggregate mixed with disodium hydrogen phosphate on inflammatory cells. *JOE*, 2009; 35(5):703-5.

Main C, Mirzayan N, Shabahang S et al. Repair of root perforations using mineral trioxide aggregate: a long-term study. *J Endod*, 2004; 30(2):80-3.

Morandi R. **Avaliação histomorfológica realizada em dentes de cães com lesão periapical, após apicectomia e obturação retrógrada convencional com cimentos a base de óxido de zinco e eugenol e o agregado trióxido mineral**. Araçatuba. Dissertação de Mestrado da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista, 1999, 319p.

Moreton TR. et al. Tissue reaction after subcutaneous implantation of mineral trioxide aggregate and ethoxbenzoic acid cement. *J Bion Mat Res*, 2000; 52(3):528-33.

Nakata TT, Bae KS, Baumgarner JC. Perforation repair comparinf Mineral Trioxide Aggregate and Amalgam using an anaerobic bacterial leakage model. *J Endod*,1998;24(3):184-6.

Park JW, Hong SH, Kim JH, Lee SJ.; Shin SJ. X Ray analysis of White ProRoot MTA and Diadent Bioaggregate. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,2010; 109(1):155-8.

Pitt Ford TR. Surgical treatment of apical periodontitis In: Orstavik D; Pitt Ford TR. **Essential Endodontology: prevention and treatment of apical periodontitis**. London, Blackwell Science, 1998; 278-307.

Pitt Ford TR. Use the mineral trioxide aggregate for repair of furcal perforations. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*,1995; 79(6) :756-63.

Regan JD, Gutmann JL, Witherpoon DE. Comparison of Diaket and MTA when used as root end filling materials to support regeneration of the perirradicular tissues. *Int Endod J*, 2002; 35:840-7.

Saidon J, Safavi K, Spangberg LS. Tissue reaction to implanted Mineral Trioxide Aggregate or Portland Cement. *J Endod*,2002; 28(3):247.

Scheerer SQ, Steiman HR, Cohen JA. Comparative evaluation of three root-end filling materials: as in vitro leakage study using *Prevotella nigrescens*. *J Endod*, 2001;27(1):40-2.

Silva Neto UX. **Capacidade seladora e adaptação marginal proporcionadas por alguns materiais quando utilizados em perfurações na região de furca**

de molares humanos. Dissertação de Mestrado, São Paulo: Faculdade de Odontologia de Bauru – Universidade de São Paulo 2002, 120p.

Sluyk SR, Moom PC, Hartwell GR. Evaluation of setting properties and retention characteristics of mineral trioxide aggregate used as a furcation perforation repair material. *J Endod*, 1998; 24(11):768-71.

Tonomaru Filho M, Tonomaru JMG, Domaneschi C. Capacidade de selamento dos materiais retrobturadores em perfurações radiculares laterais. *Rev Bras Odontol*, 2002; 59(2):80-2.

Torabinejad M, Higa, RK, Mckendry, DJ, Pitt Ford TR. Dye leakage of four root end filling materials: effects of blood contamination. *J Endod*, 1994; 20(4):159-63.

Torabinejad M, Hong CU, Lee SJ, et al. Investigation of mineral trioxide aggregate for root-end filling in dogs. *J Endod*, 1995; 21(12):603-8.

Torabinejad M, Hong CV, Mcdonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root end filling material. *J Endod*, 1995; 21(7):349-53.

Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR et al. Tissue reaction to implanted Super EBA and mineral trioxide aggregate in the mandible of guinea pigs: a preliminary report. *J Endod*, 1995; 21(11):569-71.

Torabinejad M, Pitt Ford TR, Abedi HR, et al. Histologic assessment of a mineral trioxide aggregate as a root end filling in monkeys, *J Endod*, 1997; 23(4):225-8.

Torabinejad MT, Pitt Ford RT, Abedi RH et al. Tissue reaction to implanted root – end filling materials in the tibia and mandible of guinea pigs. *J. Endod*, 1998; 24(7):468-71.

Torabinejad M, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod*,1995; 21(7):349-53.

Torabinejad M, Pitt Ford TR, MsKendry DJ et al. Histologic assessment of mineral trioxide aggregate at a root-end filling in monkeys. *J Endod*,1997; 23(4):225-8.

Torabinejad M, Rastegar AF, Kettering JD, Pitt Ford TR. Bacterial leakage of a mineral trioxide aggregate as a root end filling material. *J Endod*, 1995; 21(3):109-12.

Torabinejad M, Smith PW, Ketering JD, Pitt Ford TR.. Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. *J Endod*, 1995; 21(6):295-9.

Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *J Endod*,1993; 9(12):591-5.

Yan P, Yuan H, Peng B, Bian Z. Effect of bioaggregate on differentiation of human periodontal ligament fibroblasts. *J. Endod*, 2010:1-6

Yuan Z, Peng B, Jiang H et al Effect of bioaggregate on mineral-associated gene expression in osteoblast cells. *JOE*, 2010; 36(7):1145-8

Zhang H, Papen FG, Haapasalo M. Dentin Enhances the antibacterial effect of mineral trioxide aggregate and bioaggregate. *JOE*, 2009; 35(2):221-4.

Zhu Q. Adhesion of human osteoblasts on root-end filling materials. *J Endod*, 2000; 26(7):404-6.