

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

FLÁVIA BALDASSO

RESPOSTA TECIDUAL FRENTE AO CIMENTO ENDODÔNTICO GUTTAFLOW:
AVALIAÇÃO EM TECIDO CONJUNTIVO DE RATOS

Porto Alegre

2014

FLÁVIA BALDASSO

RESPOSTA TECIDUAL FRENTE AO CIMENTO ENDODÔNTICO GUTTAFLOW:
AVALIAÇÃO EM TECIDO CONJUNTIVO DE RATOS

Trabalho de Conclusão apresentado ao Curso de Especialização em Endodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como Requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Endodontia.

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia M. Poli Kopper Móra

Porto Alegre
2014

FLÁVIA BALDASSO

RESPOSTA TECIDUAL FRENTE AO CIMENTO ENDODÔNTICO GUTTAFLOW:
AVALIAÇÃO EM TECIDO CONJUNTIVO DE RATOS

Monografia de Conclusão apresentada ao Curso de Especialização em Endodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Endodontia.

Porto Alegre, 10 de abril de 2014.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Patrícia Maria Poli Kopper (Orientadora)
Faculdade de Odontologia/UFRGS

Mestre em Endodontia Daiana Bottcher
Faculdade de Odontologia/UFRGS

Mestre em Endodontia Aline Justo
Faculdade de Odontologia/UFRGS

AGRADECIMENTOS

À minha família, em especial aos meus pais, que estão presentes em todos momentos, sempre ajudando, aconselhando e apoiando as minhas decisões.

À Faculdade de Odontologia da UFRGS e da PUCRS pela oportunidade de aprendizado e por fornecer os materiais e tecnologias necessárias para a realização desse trabalho.

À Profa. Dra. Patrícia Maria Kopper Móra, minha orientadora, que além de todo auxílio prestado, soube, acima de tudo, lidar com a minha ansiedade, sempre otimista e muito decidida quanto ao término do trabalho.

À Profa. Dra. Roberta Scarparo, pela oportunidade de realizar esse trabalho e por dividir todo o seu conhecimento para nos ajudar na parte prática, na análise dos resultados e na escrita desse trabalho.

Ao Prof. Dr. José Antônio Poli de Figueiredo, pelo espaço, pelos animais e materiais para a realização do trabalho e, acima de tudo, pela motivação de sempre.

Ao Tiago, do laboratório de Patologia da Hospital São Lucas, por ter feito as lâminas.

Às minhas colegas Caroline Stürmer (que iniciou esse trabalho comigo) e a Gabrielle Morsch, que foram minhas colegas de graduação, especialização e que, acima de tudo, são amigas que a Odontologia me deu. Obrigada por me escutarem, aconselharem, criticarem e, principalmente, por estarem sempre comigo.

A todas minhas colegas da especialização, com quem convivi ao longo desses 2 anos, discutindo casos, trocando ideias e experiências de vida.

A Andréa, melhor secretária da Faculdade de Odontologia da UFRGS, sempre eficiente, empenhando-se para organizar as agendas e deixar os equipos em ordem, divertida e nossa companheira de conversas.

A toda a equipe de professores da Endodontia, que proporcionaram um ambiente agradável de aprendizado. Obrigada por todos os ensinamentos, pois o que vocês nos passaram é o que nos acompanhará na nossa vida de endodontistas daqui para frente, juntamente com as lembranças dos bons momentos em que tivemos ao longo do curso de especialização.

RESUMO

BALDASSO, Flávia. **Resposta tecidual frente ao cimento endodôntico GuttaFlow:** avaliação em tecido conjuntivo de ratos. 2014. 26 f. Trabalho de Conclusão (Especialização) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

A completa obturação do sistema de canais radiculares constitui um fator chave para o sucesso da terapia endodôntica. A obtenção do selamento ideal é extremamente difícil e, sendo assim, tem-se buscado um cimento que, além de se adaptar à guta-percha e às paredes dentinárias, não sofra alterações dimensionais, apresente propriedades antimicrobianas, escoamento adequado e seja biocompatível. O presente estudo teve como objetivo avaliar, em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos, a resposta tecidual frente aos cimentos GuttaFlow (à base de silicone), AH Plus (à base de resina epóxica) e Endofill (à base de óxido de zinco e eugenol). Tubos de polietileno contendo o material testado foram implantados em 12 ratos. Após 7 e 60 dias, os tecidos foram coletados para biópsia, fixados e processados para avaliação histológica. Análise do componente celular inflamatório, da condensação fibrosa e abscesso foram feitas. Comparações entre grupos e tempos foram feitas com análise descritiva. Os cimentos endodônticos AH Plus e GuttaFlow apresentaram melhor comportamento biológico em comparação com o Endofill, sendo bem tolerados pelos tecidos após 60 dias.

Palavras-chave: Tratamento endodôntico. Cimentos endodônticos. GuttaFlow.

ABSTRACT

BALDASSO, Flávia. **Tissue response to endodontic sealer GuttaFlow**: evaluation in connective tissue of rats. 2014. 26 f. Final paper (Specialization)– Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

The complete filling of the root canal system is an important factor for the success of endodontic treatment. Obtaining the ideal sealing is difficult and, therefore, we have tried to find a sealer that in addition to adapt to gutta-percha and the dentinal walls, does not undergo dimensional changes, provide antimicrobial properties, good flow and is biocompatible. The purpose of this study was to investigate the reaction of the subcutaneous connective tissue of rats to silicone-based sealer (GuttaFlow), epoxy resin-based sealer (AH Plus) and zinc oxide-eugenol sealer (Endofill). Polyethylene tubes containing the test materials were implanted in 12 rats. After 7 and 60 days, tissues were collected for biopsy and fixed and processed for histologic evaluation. Observations were made of the cellular inflammatory component, the fibrous condensation, and the abscess formation. Comparisons between groups and times were made with simple descriptive analysis. The sealers AH Plus and GuttaFlow showed better biological behavior compared with Endofill, being well tolerated by the tissues after 60 days.

Keywords: Endodontic treatment. Sealer. GuttaFlow.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	08
2 OBJETIVO	11
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
3 METODOLOGIA	12
3.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	12
3.2 LOCAL DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA.....	12
3.3 AQUISIÇÃO E ADEQUAÇÃO ALIMENTAR DOS RATOS.....	12
3.4 AMOSTRAGEM.....	12
3.5 DELINEAMENTO.....	12
3.5.1 Tipo de estudo	12
3.5.2 Procedimentos clínicos	13
3.5.3 Remoção das peças cirúrgicas	13
3.6 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO.....	14
3.7 ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	14
4 RESULTADOS	15
5 DISCUSSÃO	19
6 CONCLUSÃO	22
REFERÊNCIAS	23
ANEXO A- Carta de aprovação da Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da PUCRS.....	26

1 INTRODUÇÃO

A completa obturação do sistema de canais radiculares constitui um fator chave para o sucesso da terapia endodôntica, uma vez que, mesmo após o preparo biomecânico, as paredes do canal radicular podem conter microrganismos capazes de promover irritação aos tecidos periapicais (1-2). A obtenção do selamento ideal é extremamente difícil e, sendo assim, tem-se buscado um cimento que, além de se adaptar à guta-percha e às paredes dentinárias, não sofra alterações dimensionais, apresente propriedades antimicrobianas e escoamento adequado (2-3).

Para que estas características possam auxiliar no sucesso da terapia endodôntica, é imprescindível que o material obturador seja biocompatível. Nesse sentido, a determinação do comportamento biológico de materiais obturadores proporciona parte do embasamento científico necessário à aplicação de práticas terapêuticas bem fundamentadas (4). A biocompatibilidade de um cimento obturador está relacionada com a sua capacidade de favorecer, ou até mesmo, de promover o reparo (5).

Sabe-se que o comprometimento dos tecidos periapicais é um aspecto que influencia negativamente o processo de reparo, o qual inicia com mais rapidez quando a intensidade da irritação sofrida for baixa (6). Portanto, são considerados apropriados, do ponto de vista biológico, cimentos obturadores que apresentem boa tolerância tecidual, sejam reabsorvidos no periápice em casos de extravasamento e permitam o reparo, contribuindo para que se obtenha a menor agressão possível aos tecidos periapicais (6).

Vários estudos sustentam que respeitar o limite apical de trabalho, visando a atuação das manobras endodônticas no interior do canal dentinário, contribui para a diminuição de agressões mecânicas e químicas impostas aos tecidos durante a terapia endodôntica (6-7). O extravasamento de materiais obturadores para o periodonto apical dificulta o processo de reparo, e as repercussões de tais acidentes podem permanecer como lesões inflamatórias crônicas (7). Por outro lado, adequadas condições de biocompatibilidade de um material que venha a ser extravasado acidentalmente podem minimizar os danos, evitando que as irritações química e mecânica conduzam a uma inflamação crônica persistente (8-9).

Ainda hoje, busca-se um cimento que agregue boa capacidade de selamento e seja bem tolerado pelos tecidos (10). Nesse sentido, os diversos materiais que vem sendo propostos visam, idealmente, produzir respostas inflamatórias clinicamente aceitáveis e restritas a curtos períodos de tempo (11). Nesse contexto, para que um novo cimento endodôntico seja vantajoso em relação aos já estabelecidos no mercado, é necessário que seja realizado um conjunto de análises que permita identificar suas características físicas e de biocompatibilidade, e, após, possa-se averiguar clinicamente a sua eficácia. Dentre os cimentos disponíveis estão os cimentos de óxido de zinco e eugenol, os cimentos à base de resina epóxica e, mais recentemente, os cimentos à base de silicone (12).

Os cimentos de óxido de zinco e eugenol foram introduzidos por Grossman em 1958 (13) e, apesar do surgimento de novos materiais com características de adesão e biocompatibilidade superiores (10-14), ainda hoje são amplamente utilizados, reunindo qualidades como o baixo custo, facilidade de manipulação e boa radiopacidade (15). Entre os cimentos comercialmente disponíveis, situa-se o EndoFill.

Já os cimentos à base de resina epóxica ganharam espaço em função de características como adesão à estrutura dentária, tempo de trabalho, facilidade de manipulação e bom escoamento. O cimento AH-26 surgiu como uma alternativa em 1957, sendo uma combinação macromolecular sintética do grupo das resinas epóxicas. A partir de então, diversas modificações e alternativas foram sendo produzidas e deram origem a uma variada gama de cimentos endodônticos à base de resina epóxica, entre os quais o AH Plus (16). Devido a sua capacidade de selamento e às suas propriedades físicas e biológicas, o AH Plus tem sido considerado “padrão ouro” entre os cimentos disponíveis (17-18).

Mais recentemente, cimentos à base de silicone foram desenvolvidos a fim de aprimorar as características físicas dos cimentos endodônticos – como a porosidade, o escoamento e a adesão às paredes do canal radicular (12, 19). Entre os cimentos endodônticos à base de silicone, situa-se o GuttaFlow. (19-20). Ele consiste de uma matriz de *polydimethylsiloxane* preenchida com pó de guta-percha e partículas nanometálicas (21-22). De acordo com o fabricante e o estudo de Kontakiotis et al. (2007), este cimento tem propriedades seladoras únicas em função da sua insolubilidade, expansão pós-presão e excelente fluidez. (21-23) Pesquisas recentes

apontam vantagens desse cimento no que se refere à manutenção de condições ótimas de selamento por longos períodos de tempo (19). Por outro lado, a avaliação da resposta biológica dos tecidos frente a este material precisa ser melhor elucidada. Ainda que os estudos de citotoxicidade do GuttaFlow indiquem boas perspectivas relacionadas ao seu potencial biológico (20), até o momento não foi investigado o comportamento dos tecido periapicais frente a ele.

A aceitação do uso de um determinado produto deve ser baseada em trabalhos experimentais e laboratoriais que comprovem, entre outras propriedades, a sua biocompatibilidade. Para isso, diversas metodologias têm sido desenvolvidas de modo a elucidar com maior clareza o potencial irritante dos materiais. A implantação desses no tecido conjuntivo de pequenos animais é um método considerado adequado para avaliação da biocompatibilidade de cimentos endodônticos (10, 24).

Embora seja conhecido que as reações observadas no tecido conjuntivo de ratos não podem ser consideradas réplicas daquelas encontradas nos tecidos pulpar e periapical (25), segundo Mittal; Chandra; Chandra, o teste em ratos é uma forma econômica de se testar os efeitos biológicos dos cimentos endodônticos (26). Para este fim, a metodologia mais descrita na literatura utiliza tubos de polietileno preenchidos com os materiais que serão testados, implantados no tecido subcutâneo, na região do dorso dos ratos. As semelhanças entre esses animais e humanos apareceram de forma mais específica depois que a concepção da biologia dos ratos foi melhor compreendida a partir do mapeamento de grande parte de seu genoma, em 2004. Esse conhecimento é muito útil para estudos fisiológicos e farmacológicos, uma vez que o rato é o animal mais empregado neste tipo de estudo e, apesar da alta variabilidade de espécies, todas evidenciam resultados semelhantes ao que ocorre nos humanos (27). Diante do exposto, parece oportuno investigar a biocompatibilidade do cimento GuttaFlow em comparação com os cimentos EndoFill e AH Plus.

2 OBJETIVO

O presente estudo teve como objetivo avaliar, em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos, a resposta tecidual frente aos cimentos GuttaFlow (à base de silicone), AH Plus (à base de resina epóxica) e Endofill (à base de óxido de zinco e eugenol), nos períodos de 7 e 60 dias.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever a presença de neutrófilos, linfócitos, plasmócitos, células gigantes/gigantócitos, eosinófilos e macrófagos, nos diferentes grupos e tempos experimentais;
- Descrever a presença ou ausência de encapsulamento fibroso nos diferentes grupos e tempos experimentais;
- Descrever a presença ou ausência de abscesso nos diferentes grupos e tempos experimentais.

3 METODOLOGIA

3.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Esse projeto foi aprovado pela Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da PUCRS (Anexo A).

3.2 LOCAL DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA

Os experimentos foram realizados no Biotério da Faculdade de Biociências da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (Instituto de Toxicologia e Farmacologia) e no Laboratório de Patologia do Hospital São Lucas da PUCRS.

3.3 AQUISIÇÃO E ADEQUAÇÃO ALIMENTAR DOS RATOS

Para este estudo, foram utilizados doze ratos machos (Wistar, Albiunus) pesando entre 180 e 220 gramas, adquiridos no biotério da PUCRS. Previamente ao estudo, os animais foram examinados, tratados e alimentados por um médico-veterinário, funcionário da Faculdade de Biociências da PUCRS.

Os animais foram mantidos em gaiolas com tampas de aço inoxidável, regularmente higienizadas, com temperatura controlada e com oferta de água e ração seca Nuvelab CR1 (Nuvital, Curitiba Paraná, Brasil) e Labina (Purina, Campinas, São Paulo, Brasil) à vontade.

3.4 AMOSTRAGEM

O cálculo da amostra foi realizado considerando significância de 5% e poder do estudo de 90%. Para o experimento, os doze animais foram divididos em 2 grupos experimentais (n=6), sendo um para o período de observação de 7 dias e o outro para o de 60 dias.

3.5 DELINEAMENTO

3.5.1 Tipo de Estudo

Estudo experimental randomizado in vivo.

3.5.2 Procedimentos clínicos

Todo procedimento operatório foi realizado em ambiente asséptico, sendo os materiais cirúrgicos esterilizados.

Inicialmente, 48 tubos de polietileno, com 10 mm de comprimento e 1,3 mm de diâmetro interno, foram confeccionados a partir de scalps (Abott Lab do Brasil, São Paulo, SP, Brazil).

Os animais foram submetidos à anestesia geral. Para tanto, foi realizada a aplicação intramuscular de 0,008 ml/100g de Quetamina (Francotar[®] - Virbac do Brasil Indústria e Comércio Ltda., Roseira, SP) e 0,004 ml/100g de Cloridrato de Xilazina (Virbaxyl[®] 2% - Virbac do Brasil Indústria e Comércio Ltda., São Paulo, SP).

A seguir, a anti-sepsia foi realizada na região dorsal do animal com uma gaze esterilizada embebida em solução de álcool iodado a 3% (Quinta Essência Cosméticos e Medicamentos Ltda., Porto Alegre, RS), e realizou-se a tricotomia com o auxílio de lâminas de barbear manualmente. Uma incisão central com 8mm de comprimento foi realizada com uma lâmina de bisturi (Prolab, São Paulo, SP, Brasil), sendo o tecido subcutâneo do animal divulsionado lateralmente, em uma extensão aproximada de 18 mm, com auxílio de uma tesoura de ponta romba para se obter quatro lojas cirúrgicas, duas de cada lado da incisão.

Os cimentos GuttaFlow (Coltène Whaledent, Altstätten, Suíça), AH Plus (Dentsply - Maillefer, Suíça) e Endofill (Dentsply – Maillefer, Brasil) foram manipulados de acordo com as instruções do fabricante. Cada um dos materiais foi introduzido em 12 tubos de polietileno com o auxílio de uma sonda exploradora número 5 (Duflex, Rio de Janeiro, Brasil).

Em cada loja cirúrgica foi introduzido um tubo de polietileno, sendo que cada animal recebeu um tubo preenchido com cada um dos materiais experimentais e um tubo vazio (grupo controle). Com o auxílio de uma pinça curva adaptada, os tubos foram introduzidos nas lojas cirúrgicas, paralelamente à incisão. A sutura com pontos simples foi realizada e os animais deixados para observação.

3.5.3 Remoção das peças cirúrgicas

Decorrido cada um dos períodos experimentais (7 ou 60 dias), os animais foram sacrificados através da inalação de isofluorano. Realizou-se a tricotomia e a biópsia excisional da área do implante e as peças cirúrgicas foram fixadas individualmente em recipientes identificados contendo formol à 10% tamponado.

3.6 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

Passado o período de 48 horas, para a fixação das peças, os tubos de polietileno foram removidos através de uma lâmina de bisturi e as peças foram incluídas em parafina. O processamento histológico foi realizado de acordo com os procedimentos de rotina do Laboratório de Patologia da PUCRS. Foram realizados 3 cortes histológicos consecutivos com 5 a 6 μm de espessura por amostra. Estes cortes foram corados em hematoxilina e eosina.

3.7 ANÁLISE DOS RESULTADOS

A análise dos resultados foi feita com delineamento cego. Os cortes histológicos foram analisados em microscópio óptico, nos aumentos de 50x, 100x, 200x e 400x.

Os resultados foram apresentados de forma descritiva, comparando a resposta inflamatória dos grupos celulares (linfócitos, macrófagos, gigantócitos, neutrófilos e eosinófilos), presença de abscesso e de encapsulamento fibroso dos materiais nos períodos experimentais de 7 e 60 dias.

4 RESULTADOS

Durante o processo de remoção das peças cirúrgicas e cortes histológicos para confecção das lâminas, uma amostra do grupo Endofiil (60 dias) foi perdida, ficando a amostra deste grupo composta por 5 espécimes.

Ao comparar a reação tecidual observada nos grupos experimentais em 7 e 60 dias, verificou-se um padrão de resposta inflamatória mais intenso em 7 dias quando comparado ao período experimental de 60 dias (Figuras 1A e 1C). Quando houve infiltrado inflamatório intenso, observou-se presença de linfócitos (Figuras 2A e 2B), macrófagos (Figura 2C e 2D), células gigantes, neutrófilos e, em alguns casos, abscessos. Eosinófilos foram observados em poucos casos e, quando presentes, se encontravam dentro dos vasos ou margeando-os (Figura 3C).

A presença de macrófagos e linfócitos diminuiu consideravelmente ao longo do tempo, sendo menos frequente em 60 dias. No entanto, para este critério, os cimentos apresentaram resultados similares dentro de um mesmo período. Em relação à presença neutrófilos, gigantócitos (Figuras 3B e 3D) e abscesso, os achados foram semelhantes nos períodos de 7 e 60 dias, assim como dentro de um mesmo período entre os diferentes materiais.

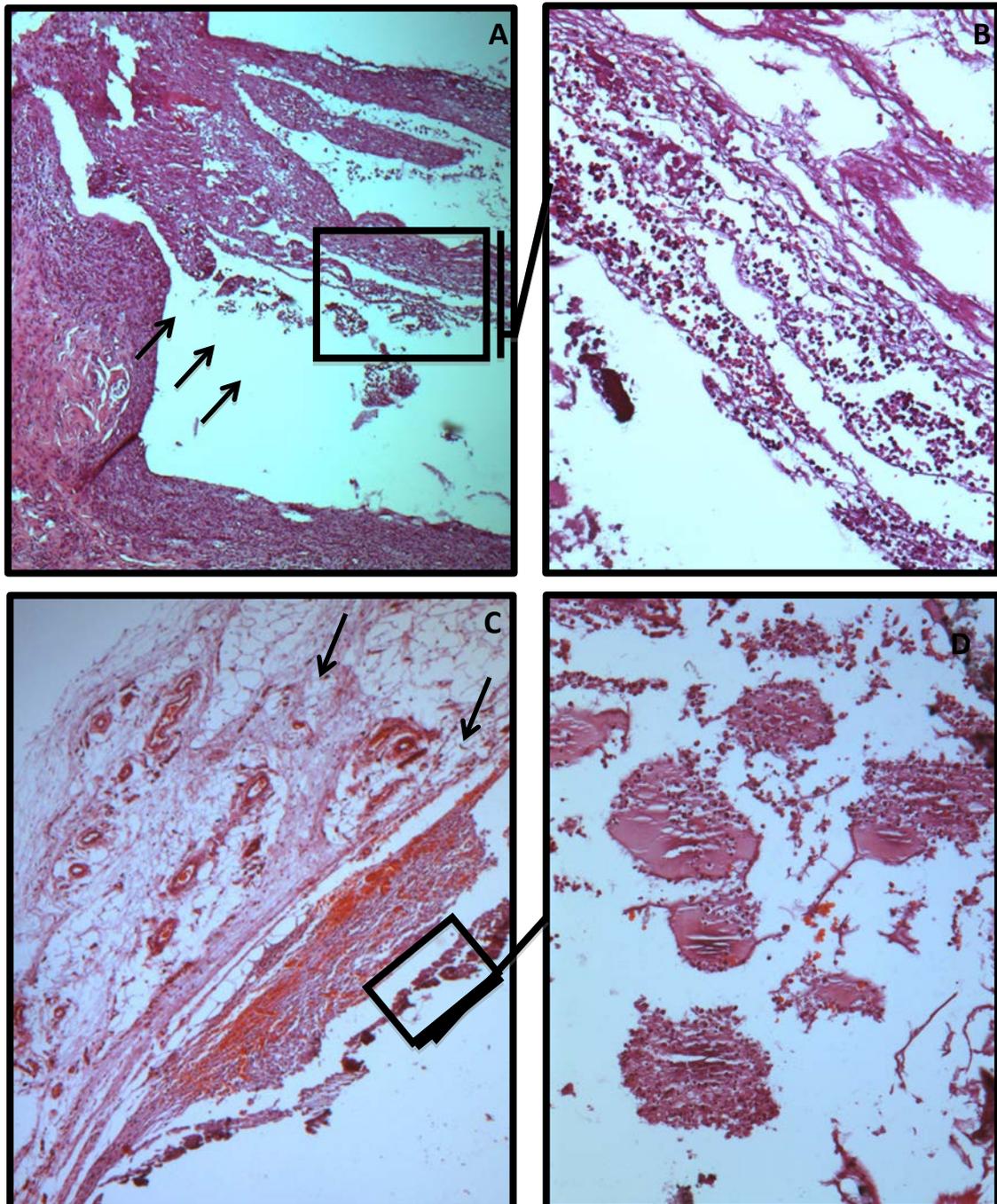
Os grupos que mostraram maior e menor quantidade de neutrófilos, no período de 7 dias, foram o controle (Figura 1B) e o GuttaFlow, respectivamente. Já no período de 60 dias, o cimento endodôntico Endofill apresentou maior quantidade de neutrófilos quando comparado aos demais grupos.

Casos de abscessos foram encontrados em apenas algumas amostras, conforme a seguinte distribuição: 2 amostras do cimento AH Plus, uma em 7 e outra em 60 dias; 2 amostras do cimento Endofill, uma em 7 e outra em 60 dias; e em 1 amostra do grupo controle, em 7 dias. No período de 60 dias, o grupo controle e GuttaFlow não apresentaram casos de abscessos.

Houve um aumento importante na quantidade de fibras no período de 60 dias em todos os grupos (Figura 3A). O cimento endodôntico Endofill apresentou resultados similares ao grupo controle em 7 dias quanto à condensação de fibras. No período de 60 dias, todos os grupos foram similares para este critério, mostrando capacidade de encapsular o material e, quando presente, restringir a reação

inflamatória.

Figura 1- (A) Grupo controle – 7 dias (50x): Presença de infiltrado inflamatório intenso (setas), ausência de fibras colágenas encapsulando o tubo e (B) neutrófilos na zona central em maior aumento (setas) (200x). (C) Grupo Endofill – 60 dias (100x): presença de fibras encapsulando o material (setas) e (D) neutrófilos na zona mais central em maior aumento (setas) (200X).



Fonte: do autor, 2014.

Figura 2- (A) Grupo Endofil- 7 dias (100x): Presença de infiltrado inflamatório intenso (B) presença de linfócitos na zona central em maior aumento (400x) e ausência de fibras colágenas encapsulando o material. (C) Grupo AH Plus-7 dias (200x): Presença de infiltrado inflamatório com material obturador sendo englobado (setas) e (D) presença de macrófagos em maior aumento (setas) (400x).

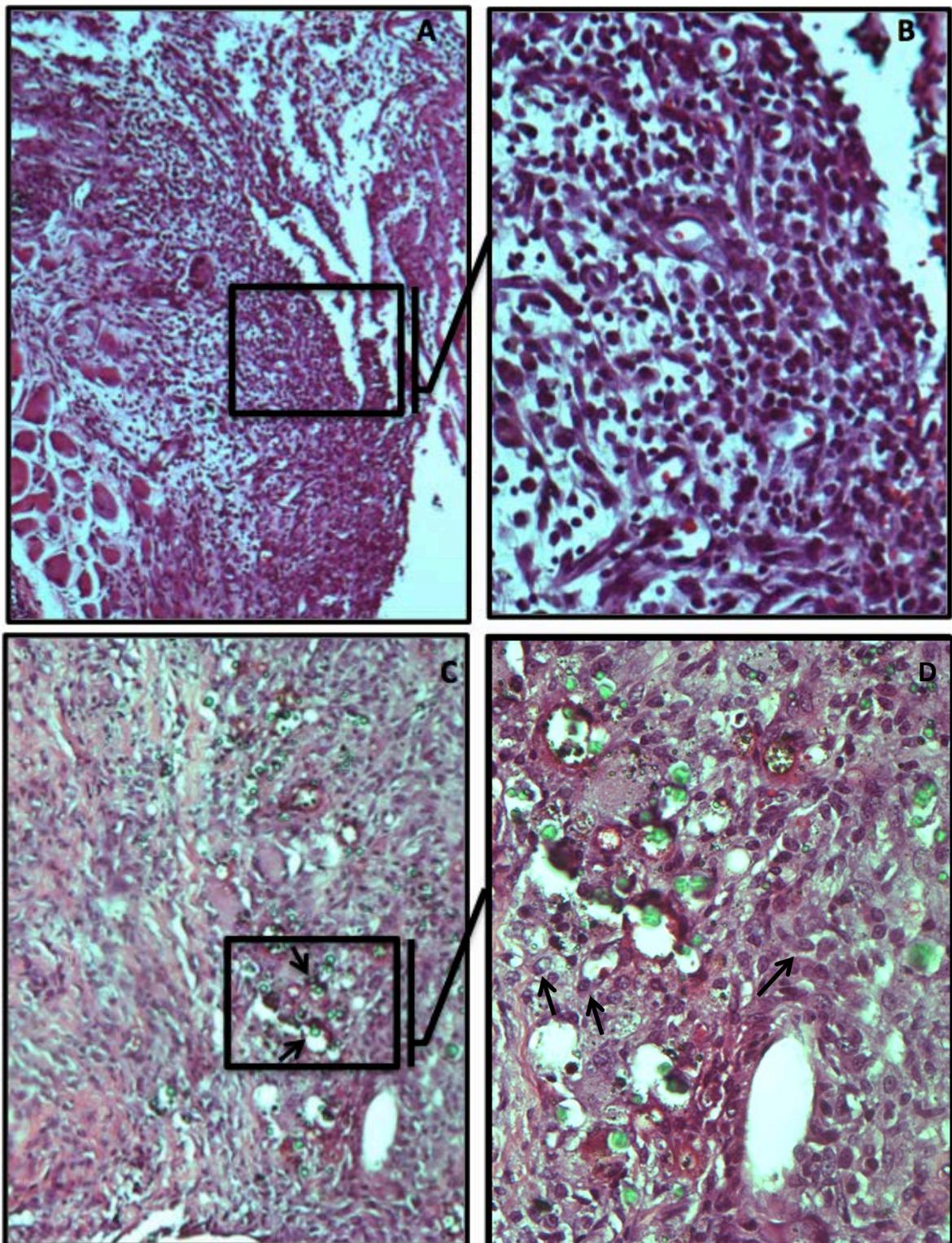
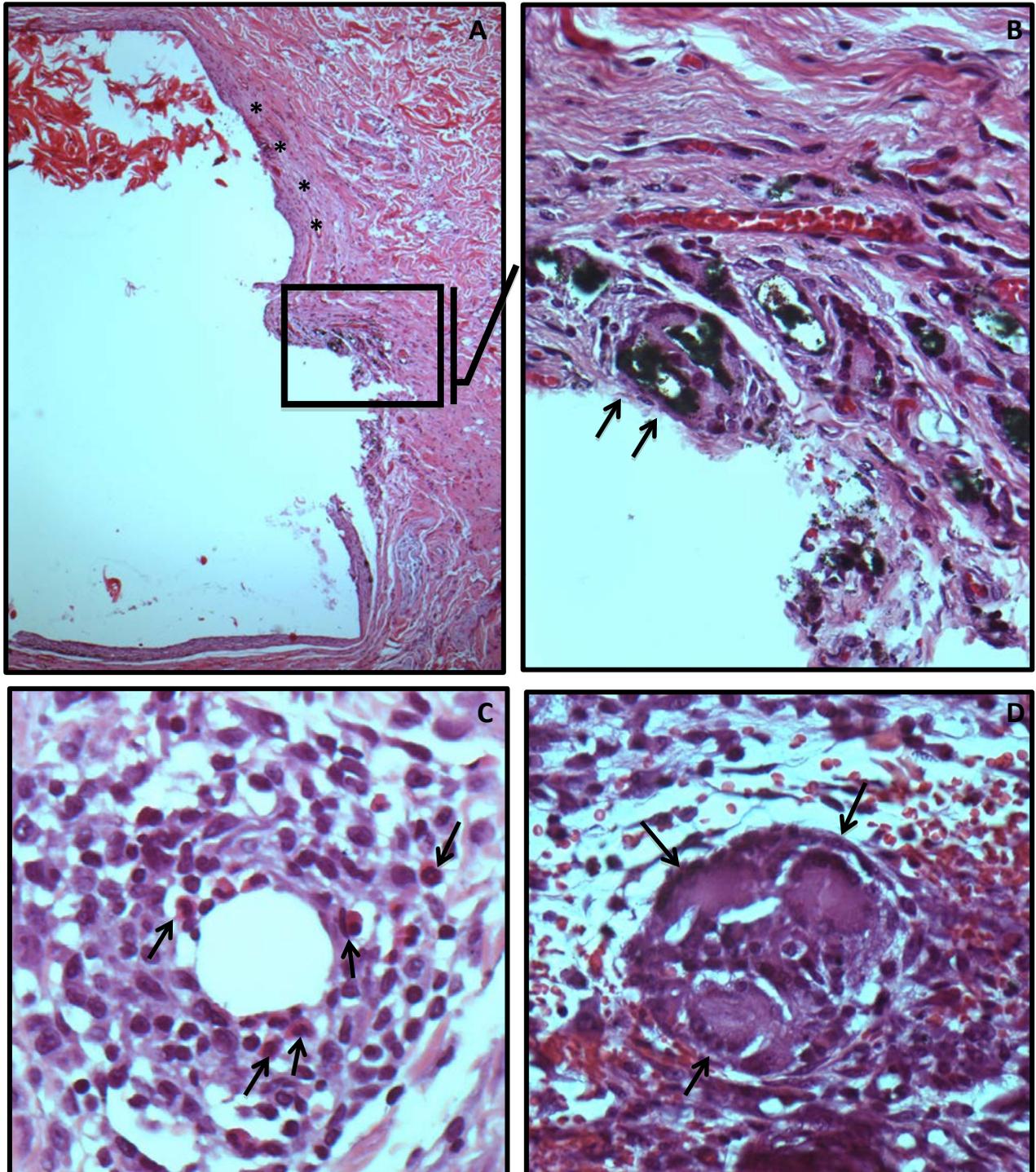


Figura 3- (A) Grupo GuttaFlow– 60 dias (50x): Presença de macrófagos e gigantócitos englobando o material obturador e fibras encapsulando o tubo (*). (B) Gigantócito em maior aumento englobando o material obturador (setas) (400x). (C) Grupo GuttaFlow – 7 dias (400x): Eosinófilos margeando os vasos (setas). (D) Grupo controle – 7 dias (400x): Presença de gigantócitos (setas).



5 DISCUSSÃO

Cimentos endodônticos são importantes para o selamento adequado do canal radicular após a obturação. Eles atuam como um agente de união entre a gutapercha e as paredes dentinárias (28). Uma importante propriedade dos cimentos é a compatibilidade biológica, pois os cimentos estão em contato direto com os tecidos apicais e periapicais e não deveriam induzir uma resposta inflamatória (28). Para Hauman e Love, para escolha dos materiais empregados na terapia endodôntica, a biocompatibilidade destes é tão importante quanto suas características físicas e químicas (29). Segundo os referidos autores (25), apenas materiais que tem provado ter uma biocompatibilidade aceitável em experimentos *in vitro* e *in vivo* devem ser considerados para o uso.

Este trabalho testou cimentos endodônticos em tecido subcutâneo de ratos, uma vez que este animal é o mais empregado neste tipo de estudo. Apesar da alta variabilidade de espécies, todas evidenciam resultados semelhantes ao que ocorre nos humanos (27).

Conforme já descrito na literatura, a ocorrência de células inflamatórias crônicas e agudas, presença de material obturador, macrófagos, células gigantes e vasos demonstraram que cimentos endodônticos são irritantes e podem ser reabsorvidos pelos tecidos periapicais, permitindo o reparo (25). Sabe-se que, independentemente do cimento, o período pós-implantação pode afetar a intensidade da reação inflamatória (30). Neste estudo, de forma geral, todos os grupos apresentaram resultados similares em relação à resposta inflamatória durante os períodos experimentais. A tendência do processo inflamatório reduzir ao longo do tempo foi observada, estando em concordância com outros estudos (10, 31-32).

Neutrófilos foram observados em menor quantidade, quando comparados a linfócitos e macrófagos em todos os grupos. Esse fato se explica por não haver um período experimental menor que 7 dias, onde predominaria uma inflamação aguda com predominância de neutrófilos (10).

Segundo Figueiredo *et al.* (33), a implantação de material para teste biológico no dorso de animais é um local de fácil acesso aos outros animais, podendo haver contaminação do acesso cirúrgico. Este fato pode explicar os casos de abscesso

encontrados em algumas amostras.

No período de 7 dias, houve maior presença de neutrófilos no grupo controle. Esse resultado pode ser explicado por um processo inflamatório agudo e alguma infecção/inflamação mais intensa, podendo ser relacionada à prática operatória na região da incisão no dorso do rato, onde foi colocado o tubo de polietileno.

No período de 60 dias, o Endofill apresentou um número maior de neutrófilos, enquanto o grupo controle e GuttaFlow apresentaram menor quantidade. Isso indica que as características da inflamação aguda permaneceu por um longo período no grupo do Endofill. De acordo com Kolokouris (1998), neutrófilos estão presentes em reações teciduais de cimento à base de óxido de zinco (32).

Em concordância com Kolourius *et al.* (1998), macrófagos e gigantócitos foram encontrados englobando o material obturador no período de 60 dias. Gigantócitos são células que participam das reações do organismo para eliminar corpos estranhos e estão associados à presença de material que o organismo tem dificuldades para degradar (10). No presente estudo, foram observados em pequenos números entre os períodos de 7 e 60 dias. No período de 7 dias, o grupo Endofill foi o que apresentou predominância dessa célula. De acordo com de Oliveira Mendes (34), os cimentos não afetam a viabilidade dos macrófagos, mas a aderência e a fagocitose podem estar debilitadas.

Eosinófilos são células inflamatórias raras, estão relacionados com hipersensibilidade e apresentam uma tendência a aumentar o potencial de reação tecidual (10). Alguns estudos associaram o Endofill com o aumento da ocorrência de dessas células (10, 24). Neste experimento, eosinófilos foram observados em poucos casos e não apresentam relevância clínica, visto que, quando presentes, se encontravam dentro dos vasos ou margeando-os.

O cimento AH Plus tem sido considerado “padrão-ouro” na Endodontia em função de sua alta biocompatibilidade. Nesse experimento, concordando dos achados de outros estudos (24, 30), o cimento AH Plus, no período de 60 dias, mostrou-se menos irritante que o Endofill.

A biocompatibilidade de um cimento obturador está relacionada com a sua capacidade de promover, ou até mesmo, de favorecer o reparo (5). Em

concordância com Kolourius *et al.* (32), o exame macroscópico da região incisada mostrou-se satisfatoriamente cicatrizada em todos os animais. Microscopicamente, houve um aumento importante na quantidade de fibras no período de 60 dias em todos os grupos. Tal fato sugere que todos os cimentos testados apresentam boa capacidade em encapsular o material, restringindo a resposta inflamatória, quando presente, e sendo capazes de favorecer o reparo na região. Mais importante do que a condensação fibrosa é a capacidade do cimento endodôntico permitir que fibras encapsulem o material obturador, evitando que haja disseminação da resposta inflamatória para o interior do tecido conjuntivo.

No presente estudo, o GuttaFlow apresentou-se um cimento biocompatível quando comparado ao AH Plus e Endofill, com resultados de intensidade inflamatória e encapsulamento fibroso similares ao grupo controle no período de 60 dias. Zoufan *et al.*(20) em seu estudo, mostrou que o cimento GuttaFlow apresenta menor citotoxicidade quando comparado ao AH Plus. Outros estudos (35-36) mostraram que o GuttaFlow apresenta boa compatibilidade e baixa toxicidade tecidual. A literatura (20, 35-36) tem mostrado que o cimento endodôntico GuttaFlow apresenta bons resultados em relação a sua biocompatibilidade. No entanto, sugere-se que, para que o GutaFlow possa ser empregado com segurança na clínica endodôntica, mais investigações a respeito deste material devem ser realizadas.

6 CONCLUSÃO

Os cimentos endodônticos AH Plus e GuttaFlow apresentaram melhor comportamento biológico em comparação com o Endofill, sendo bem tolerados pelos tecidos após 60 dias.

REFERÊNCIAS

1. Ngyen TN. Obturation of the root canal system. In: Cohen S, Burns RC. Pathways of the pulp. 6th ed. St. Louis: Mostby; 1994. p. 219-71.
2. Pecora J, Souza-Neto MD. Testes físico-químicos de materiais odontológicos. In: Estrela C. Metodologia científica. Porto Alegre: Artes Médicas; 2001. p. 224-47.
3. Georgoupoulou et al. Effect of thickness on the sealing ability of some root canal sealers. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1995;80:338-344.
4. Costa CAS. Testes de biocompatibilidade dos materiais odontológicos. In: Estrela, C. Metodologia científica. Porto Alegre:Artes Médicas; 2001. p. 162-94.
5. Berbert FL, Leonardo MR, Silva LA, Tanomaru Filho M, Bramante CM. Influence of root canal dressings and sealers on repair of apical periodontitis after endodontic treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002 Feb;93(2):184-9.
6. Mendonça EF, Estrela C. Reparo após o tratamento endodôntico. In:Esrela C, Figueiredo JAP. Endodontia: princípios biológicos e mecânicos. São Paulo: Artes Médicas; 2001. p.295-314.
7. Ricucci D, Langeland K. Apical limit of root canal instrumentation and obturation, part 2. A histological study. Int Endod J. 1998 Nov;31(6):394-409.
8. Seltzer S, Bender IB, Smith J, Freedman I, Nazimov H. Endodontic failures--an analysis based on clinical, roentgenographic, and histologic findings. I. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1967 Apr;23(4):500-16.
9. Seltzer S. Endodontology. 1971.
10. Scarparo RK, Grecca FS, Fachin EV. Analysis of tissue reactions to methacrylate resin-based, epoxy resin-based, and zinc oxide-eugenol endodontic sealers. J Endod. 2009 Feb;35(2):229-32.
11. Yesilsoy C, Koren LZ, Morse DR, Kobayashi C. A comparative tissue toxicity evaluation of established and newer root canal sealers. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1988 Apr;65(4):459-67.
12. Mokeem-Saleh A, Hammad M, Silikas N, Qualtrough A, Watts DC. A laboratory evaluation of the physical and mechanical properties of selected root canal sealers. Int Endod J. 2010 Oct;43(10):882-8.
13. Grossman LI. An improved root canal cement. J Am Dent Assoc. 1958 Mar;56(3):381-5.
14. Ligoki. A. Avaliação microscópica da reação do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos frene à implantação de cimento para obturação de canal [dissertação] .

Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia; 1998.

15. Haikel Y, Wittenmeyer W, Bateman G, Bentaleb A, Allemann C. A new method for the quantitative analysis of endodontic microleakage. *J Endod.* 1999 Mar;25(3):172-7.
16. Tronstad L. *Endodontics-a textbook.* New York: Thieme Medical Publisher; 1991. p.158-66.
17. Oztan MD, Yilmaz S, Kalayci A, Zaimoglu L. A comparison of the in vitro cytotoxicity of two root canal sealers. *J Oral Rehabil.* 2003 Apr;30(4):426-9.
18. De Almeida WA, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LA. Evaluation of apical sealing of three endodontic sealers. *Int Endod J.* 2000 Jan;33(1):25-7.
19. Savariz A, Gonzalez-Rodriguez MP, Ferrer-Luque CM. Long-term sealing ability of GuttaFlow versus Ah Plus using different obturation techniques. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010 Nov;15(6):e936-41.
20. Zoufan K, Jiang J, Komabayashi T, Wang YH, Safavi KE, Zhu Q. Cytotoxicity evaluation of Gutta Flow and Endo Sequence BC sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011 Nov;112(5):657-61.
21. Kontakiotis EG, Tzanetakis GN, Loizides AL. A 12-month longitudinal in vitro leakage study on a new silicon-based root canal filling material (Gutta-Flow). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007 Jun;103(6):854-9.
22. Vasiliadis L, Kodonas K, Economides N, Gogos C, Stavrianos C. Short- and long-term sealing ability of Gutta-flow and AH-Plus using an ex vivo fluid transport model. *Int Endod J.* 2010 May;43(5):377-81.
23. Guttaflow instruction for use. Altstätten, Suíça: Coltene/Whaledent Inc; 2008.
24. Tavares CO, Bottcher DE, Assmann E, Kopper PM, de Figueiredo JA, Grecca FS, et al. Tissue reactions to a new mineral trioxide aggregate-containing endodontic sealer. *J Endod.* 2013 May;39(5):653-7.
25. Olsson B, Sliwkowski A, Langeland K. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. *J Endod.* 1981 Aug;7(8):355-67.
26. Mittal M, Chandra S. Comparative tissue toxicity evaluation of four endodontic sealers. *J Endod.* 1995 Dec;21(12):622-4.
27. Kola I. Putting the rat on the map. *Nat Biotechnol.* 2004 May;22(5):529-31.
28. Leonardo MR, Bezerra da Silva LA, Filho MT, Santana da Silva R. Release of formaldehyde by 4 endodontic sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999 Aug;88(2):221-5.

29. Hauman CH, Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 2. Root-canal-filling materials. *Int Endod J*. 2003 Mar;36(3):147-60.
30. Batista RF, Hidalgo MM, Hernandez L, Consolaro A, Velloso TR, Cuman RK, et al. Microscopic analysis of subcutaneous reactions to endodontic sealer implants in rats. *J Biomed Mater Res A*. 2007 Apr;81(1):171-7.
31. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Lodi CS, Cintra LT, Nery MJ, Filho JA, et al. Rat tissue reaction to MTA FILLAPEX(R). *Dent Traumatol*. 2012 Dec;28(6):452-6.
32. Kolokouris I, Economides N, Beltes P, Vlemmas I. In vivo comparison of the biocompatibility of two root canal sealers implanted into the subcutaneous connective tissue of rats. *J Endod*. 1998 Feb;24(2):82-5.
33. Figueiredo JA, Pesce HF, Gioso MA, Figueiredo MA. The histological effects of four endodontic sealers implanted in the oral mucosa: submucous injection versus implant in polyethylene tubes. *Int Endod J*. 2001 Jul;34(5):377-85.
34. de Oliveira Mendes ST, Ribeiro Sobrinho AP, de Carvalho AT, de Souza Cortes MI, Vieira LQ. In vitro evaluation of the cytotoxicity of two root canal sealers on macrophage activity. *J Endod*. 2003 Feb;29(2):95-9.
35. Gencoglu N, Sener G, Omurtag GZ, Tozan A, Uslu B, Arbak S, et al. Comparison of biocompatibility and cytotoxicity of two new root canal sealers. *Acta Histochem*. 2010 Nov;112(6):567-75.
36. Eldeniz AU, Mustafa K, Orstavik D, Dahl JE. Cytotoxicity of new resin-, calcium hydroxide- and silicone-based root canal sealers on fibroblasts derived from human gingiva and L929 cell lines. *Int Endod J*. 2007 May;40(5):329-37.

ANEXO A- Carta de aprovação da Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da PUCRS.



*Comissão Científica e de Ética
Faculdade da Odontologia da PUCRS*

Porto Alegre 27 de março de 2013

O Projeto de: Pesquisa

Protocolado sob n°: 0012/13
Intitulado: Resposta tecidual frente ao cimento endodôntico Gutttaflow: avaliação em tecido conjuntivo de ratos.
Pesquisador Responsável: Profa. Dra. Roberta Scarparo
Pesquisadores Associados: Caroline Patta Stürmer; Fabiana Vier Pelisser; Flávia Baldasso; José Antônio P. de Figueiredo; Patrícia Maria Kopper; Renata Morgental
Nível: Pesquisa /

Foi **aprovado** pela Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da PUCRS em 27 de março de 2013.

Este projeto deverá ser imediatamente encaminhado ao CEUA/PUCRS.

Profa. Dra. Luciane Macedo de Menezes
 Coordenadora da Comissão Científica e de Ética da
 Faculdade de Odontologia da PUCRS

