



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE  
MATERIAIS**

**TESE**

**ESTUDO *IN VIVO* DA HIDROXIAPATITA NO CIMENTO ENDODÔNTICO E  
SEU EFEITO OSTEOCONDUTOR EM RATOS WISTAR (*rattus norvegicus*)**

**CRISEUDA MARIA BENÍCIO BARROS**

**Campina Grande – PB**

**2012**

**Estudo *in vivo* da hidroxiapatita no cimento endodôntico e seu efeito osteocondutor em ratos Wistar (*rattus norvegicus*)**

**Criseuda Maria Benício Barros**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais.

**Orientadora: Profa. Dra. Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa**

**Co-Orientadora: Dra. Eliria Maria de Jesus Agnolon Pallone (DCB/USP)**

Campina Grande – PB

Novembro de 2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

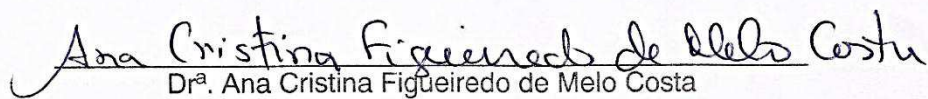
- B277e      Barros, Criseuda Maria Benício.  
Estudo *in vivo* da hidroxiapatita no cimento endodôntico e seu efeito osteocondutor em ratos Wistar (*rattus norvegicus*) / Criseuda Maria Benício Barros. – Campina Grande, 2012.  
171 f. : il. color.
- Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2012.
- "Orientação: Profa. Dra. Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa, Profa. Dra. Elíria Maria de Jesus Agnolon Pallone".
- Referências.
1. Endodontia. 2. Mineral Trióxido Agregado. 3. Hidroxiapatita. 4. Cimentos Endodônticos. 5. Osteocondução. I. Costa, Ana Cristina Figueiredo de Melo. II. Pallone, Elíria Maria de Jesus Agnolon. III. Título.

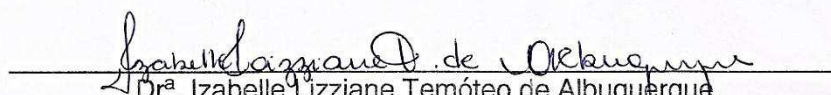
CDU 616.314.18(043)

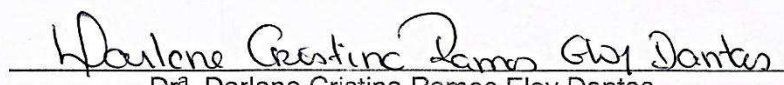
ESTUDO IN VIVO DA HIDROXIAPATITA NO CIMENTO ENDODÔNTICO MTA E  
SEU EFEITO OSTEOCONDUTOR EM RATOS WISTAR (RATTUS  
NORVEGICUS)

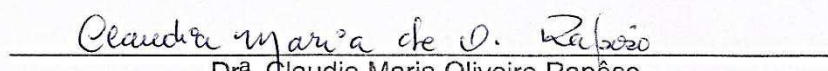
**Criseuda Maria Benício Barros**

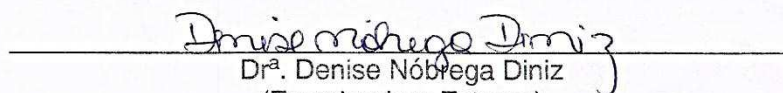
Tese Aprovada em 30/11/2012 pela banca examinadora constituída dos seguintes  
membros:

  
Dr.<sup>a</sup>. Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa  
(Orientadora)  
UAEMa – UFCG

  
Dr.<sup>a</sup>. Izabelle Lizziane Temóteo de Albuquerque  
(Examinadora Externa)  
Pesquisadora da UFCG

  
Dr.<sup>a</sup>. Darlene Cristina Ramos Eloy Dantas  
(Examinadora Externa)  
DO - UEPB

  
Dr.<sup>a</sup>. Claudia Maria Oliveira Raposo  
(Examinadora Externa)  
UAEM - UFCG

  
Dr.<sup>a</sup>. Denise Nóbrega Diniz  
(Examinadora Externa)  
DO - UEPB

“Para mim, a oração é um impulso do coração, um simples olhar dirigido para o céu, um grito de agradecimento e de amor, tanto do meio do sofrimento como do meio da alegria. Em uma palavra, é algo grande, algo sobrenatural que me dilata a alma e me une a Jesus”.l

**SANTA TEREZINHA**

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esta tese à Deus, meus pais e a minha eterna amiga Maria do Socorro Andrades de Souza (*in memoriam*) pela amizade, apoio, incentivos e companheirismo.

## AGRADECIMENTOS

À Deus por conceder mais uma realização pessoal e profissional, obrigada pelas bênçãos diárias. *Deus não escolhe os capacitados mais capacita os escolhidos.*

Agradeço aos meus pais, José Benício Vitorino e Raimunda Salomy Barros Vitorino pelo amor incondicional, pelos mais valiosos ensinamentos, por abrir meus olhos para o mundo e me guiar sempre pelo caminho do bem, com os mais belos exemplos e por compreender a minha ausência no dia a dia. Se hoje sou o que sou é graças a vocês que me ensinaram a ser assim.

Aos meus filhos, Juliana, Júlio Cesar e Janaina que sempre compartilharam comigo seus sorrisos e seus abraços mesmo que eu tenha estado muitas vezes ausente.

À Lis Samoly, pela sua alegria irradiada, aliviando as tensões do dia a dia.

À Profa. Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa por sua generosidade e acolhida nesta caminhada científica, sempre disposta a oferecer estímulos e principalmente a ouvir com interesse e ânimo todas as questões, dúvidas e problemas que lhe foram sugeridas durante o processo de reflexão. Você é realmente um exemplo de professora. Muito obrigada.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Kaline Melo de Souto Viana, pela orientação no rumo a ser tomado nesta caminhada.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Laura Hecker de Carvalho e a Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Crislene Rodrigues Silva Moraes pela sua simplicidade e carinho.

Ao Prof<sup>o</sup> Marcos Vinicius Lia Fook pelo apoio dado no início desta caminhada.

À secretária da pós-graduação, Márcia por sua paciência e atenção dispensada.

Agradeço a Patrícia Tatiana, Cibele e Sileide e aos demais alunos da Prof<sup>a</sup> Ana Cristina pelo respeito com próximo e ajuda durante os experimentos laboratoriais.

Às companheiras do curso Munique e Juliana Cartaxo pelo convívio que me proporcionaram.

À Sara Verusca de Oliveira, por sua amizade e disponibilidade de ter ajudado no início dessa caminhada numa época de transição e muita dificuldade.

Agradeço a Cláudia Maria Oliveira Rapôso, Izabelle Lizziane Temóteo de Albuquerque, Denise Nóbrega Diniz e Darlene Cristina Ramos Eloy Dantas, por aceitarem o convite de participar da banca, contribuindo assim no desenvolvimento desta tese.

Agradecimento em especial ao meu amigo Robson Antão de Medeiros pelo seu apoio incondicional, compartilhando das minhas conquistas com o carinho de um ente familiar.

Agradecimento em especial a Luciana de Barros Correia Fontes pela sua amizade e lealdade.

Agradecimento especial à Polliana Muniz pela sua valiosa contribuição na realização das análises histopatológicas.

Agradecimentos a Ana Luzia Batista, Alexandre Durval, Carmen de Lucia Soares de Medeiros, e Denise Nóbrega Diniz, Darlene Cristina Ramos Eloy Dantas, Francineide G. Carneiro de Melo e Jocelma Lopes Silva pela atenção dispensada.

A Célia Regina Diniz e Maria do Socorro Barbosa pelo apoio na realização do procedimento histopatológico. Muito obrigada.

Agradecimento a Clínica Radiológica Dr Saturnino Nobrega sua equipe na realização dos procedimentos radiográficos.

Agradeço aos meus pacientes pela compreensão da minha ausência durante os atendimentos. Muito obrigado

Agradeço a Karla Melo de Souto pela imensa ajuda no final da tese.

À Maurite pelas palavras de fé e coragem e por sempre acreditar na vitória.

Agradeço aos Dr(s) Paulo de Freitas Monteiro, Alexandre Magno Nobrega, Maria Teresa Nascimento e Silva pela oportunidade de realizar o estudo *in vivo* no biotério da Faculdade de Medicina da UFCG.

Agradeço a ajuda incondicional ao amigo e técnico Antonio Paulinho Pereira Filho, durante a realização dos procedimentos cirúrgicos no biotério.



Os sinceros agradecimentos à Medica Veterinária Thárcita Kiara de Oliveira pelas suas orientações nos procedimentos cirúrgicos do ensaios de biocompatibilidade.

O meu agradecimento especialmente aos animais, que doaram as suas vidas, para a realização deste trabalho.

O carinho dos amigos: Beatriz Sousa; Maria de Fátima Cavalcanti; Bernadete Cavalcanti; Josete Barros; Josete Almeida; Mônica Trindade; Luis Nicomedes; Regina Coelho; Antonio Cavalcante; Hélio José Simões de Farias; M<sup>a</sup> Graça Amorim; Andréa de Amorim Pereira Barros; Roberta Gouveia da Silva Bezerra e Vera Siqueira.

A todos que fizeram parte deste período da minha vida e que de alguma forma contribuíram para a realização desta tese, incluindo colegas e amigos, Pedro Almir Felix (*in memoriam*) e alunos da UEPB não citados, mas que também manifestaram apoio e sincero incentivo.

## RESUMO

Neste trabalho foi avaliado o efeito da adição 1, 3 e 5% em massa de hidroxiapatita (HAp) no cimento endodôntico MTA objetivando adquirir novos cimentos endododônticos com propriedade osteocondutora. Para este fim, estudos *in vivo* em defeitos ósseos de fêmures de rato do tipo Wistar foi investigado. Os cimentos endodônticos foram preparados com percentuais de 1, 3 e 5% em massa de HAp sintetizada em laboratório pelo método de precipitação e posteriormente tratada termicamente a 1300°C adicionada ao MTA comercial. O MTA, a HAp e os cimentos foram caracterizados por: difração de raios-X (DRX), espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), fluorescência de raios-X (EDX), microscopia eletrônica de varredura (MEV), aspecto radiográfico, consistência, tempo de endurecimento e ensaios *in vivo*. Os resultados mostraram que o MTA comercial apresentou composição e consistência características de um cimento hidráulico, com bandas de absorção correspondente aos grupos fosfato, silicato, carbonato, O-H e Bi-O; morfologia constituída por aglomerados com alta radiopacidade devido ao óxido de bismuto presente em sua composição e tempo de endurecimento de 20 minutos. A HAp produzida experimentalmente resultou em um produto monofásico, com bandas de absorção correspondentes à OH<sup>-</sup> e ao grupo fosfato e carbonato, constituída de partículas finas na forma de aglomerados, baixa radiopacidade, tempo de endurecimento de 10 minutos. Os novos cimentos endodônticos produzidos resultaram em produtos com as mesmas fases cristalinas, bandas de absorção e composição química de seus materiais precursores, porém com radiopacidade e tempo de endurecimento próximo ao MTA puro. Através dos ensaios *in vivo* (análises radiográfica, histológica e estatística), verificou-se que a concentração de 5% de hidroxiapatita forneceu a melhor propriedade de osteocondução ao MTA. Assim para utilização na Saúde Pública através dos tratamentos odontológicos conservadores como capeamento pulpar direto e indireto, pulpotomia e cirurgias pararendodônticas, indica-se a hidroxiapatita como o melhor material para a indução de pontes dentinárias. Já considerando o caso de selamentos de infiltração nos tratamentos endodônticos, o MTA/HAp5% é o material mais indicado pois este apresentará a função seladora do MTA, juntamente com a indução de neoformação óssea da HAp, diminuindo o tempo de preservação.

Palavras-chave: mineral trióxido agregado, hidroxiapatita, cimentos endodônticos, osteocondução.

## ABSTRACT

This paper was evaluated the effect of adding 1, 3 and 5% by weight of hydroxyapatite (HAp) on MTA sealer cements endodontics aiming to acquire new osteoconductive property. To this end, *in vivo* studies of bone defects in rat femurs of Wistar type was investigated. The sealers were cooked with percentages of 1, 3 and 5 wt% of HAp synthesized in our laboratory using the method of precipitation and subsequently heat treated at 1300°C added to commercial MTA. The MTA, the HAp and the cements were characterized by X-ray diffraction (XRD) spectroscopy, infrared Fourier transform (FTIR), X-ray fluorescence (EDX), scanning electron microscopy (SEM) , radiographic appearance, consistency, setting time and *in vivo* assays. The results show that MTA had commercial composition and consistency characteristics of a hydraulic cement, with absorption bands corresponding to groups phosphate, silicate, carbonate, and Bi-O, OH<sup>-</sup>, morphology consisting agglomeradoscom high radiopacity due to bismuth oxide present in its composition and hardening time of 20 minutes. A HAp produced experimentally resulted in a product phase, with absorption bands corresponding to OH<sup>-</sup> group and the phosphate and carbonate, consisting of fine particles in form of agglomerates, low radiopacity, hardening time of 10 minutes. The new sealers resulted in products produced with the same crystalline phases, absorption bands and the chemical composition of their precursor materials, but with time and radiopacity hardening near the MTA pure. Through *in vivo* assays (analyzes radiographic, histologic and statistics), it was found that the concentration of 5% hydroxyapatite provided the best osteoconductive properties to the MTA. Thus for use in public health through conservative dental treatment as direct and indirect pulp capping, pulpotomy and periradicular surgical procedures, indicates the hydroxyapatite as the best material for the induction of dentinal bridges. Already considering the case of sealing infiltration in endodontic treatments, the MTA/HAp5% is the best material for this present MTA sealing function, along with the induction of new bone formation of HAp, reducing the time of follow up.

Keywords: mineral trioxide aggregate, hydroxyapatite, sealers, osteoconduction.

## PUBLICAÇÕES

### Artigos submetidos para publicação

- BARROS, C. M. B.; DANTAS, D. C. R. E.; FONTES, L. B. C.; COSTA, A. C. F. M.; VIANA, K. M. S. "Incorporation of hydroxyapatite to the MTA: a new endodontic sealer". *Materials Research*, 2012.
- BARROS, C. M. B.; DANTAS, D. C. R. E.; FONTES, L. B. C.; COSTA, A. C. F. M.; VIANA, K. M. S. "Development of MTA/HAp biomaterials for use in endodontics". *Materials Science Forum*, 2012.

### Artigos publicados

- BARROS, C. M. B.; OLIVEIRA, S. V.; MARQUES, J. B.; COSTA, A. C. F. M.; VIANA, K. M. S. "Analysis of the hydroxyapatite incorporate MTA dental application". *Materials Science Forum*, v. 727-728, p. 1381-1386, 2012.
- BARROS, C. M. B.; SILVA, D. A. R.; DANTAS, D. C. R. E.; FONTES, L. B. C.; COSTA, A. C. F. M.; VIANA, K. M. S. "Desenvolvimento do biomaterial MTA/HAp para uso em endodontia". *7º Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais*, 2012.
- BARROS, C. M. B.; OLIVEIRA, S. V.; DANTAS, D. C. R. E.; FONTES, L. B. C.; COSTA, A. C. F. M.; VIANA, K. M. S. "Caracterização de um novo cimento endodôntico MTA/HAp". *56º Congresso Brasileiro de Cerâmica*, 2012.
- BARROS, C. M. B.; OLIVEIRA, S. V.; MARQUES, J. B.; COSTA, A. C. F. M.; VIANA, K. M. S. "Analysis of the hydroxyapatite incorporate mta dental application". *Eighth international Latin American conference on powder technology*, 2011.

- BARROS, C. M. B.; SILVA, M. C.; OLIVEIRA, S. V.; CARTAXO, J. M.; FOOK, M. V. L. “Espectroscopia na região do infravermelho e difração de raios-X do agregado trióxido mineral”. *55º Congresso Brasileiro de Cerâmica*, 2011.
- BARROS, C. M. B.; SILVA, M. C.; OLIVEIRA, S. V.; MARQUES, J. B.; FOOK, M. V. L. “Caracterização do cimento de fosfato de cálcio para uso odontológico”. *55º Congresso Brasileiro de Cerâmica*, 2011.

### **Resumos publicados**

- BARROS, C. M. B.; SILVA, D. A. R.; DANTAS, D. C. R. E.; FONTES, L. B. C.; COSTA, A. C. F. M.; VIANA, K. M. S. “Incorporation of hydroxyapatite to the MTA: a new endodontic sealer”. *5<sup>th</sup> Latin American Conference on Metastable and Nanostructured Materials*, 2012.
- BARROS, C. M. B.; OLIVEIRA, S. V.; MARQUES, J. B.; COSTA, A. C. F. M.; VIANA, K. M. S. Estudo da adição da hidroxiapatita ao MTA: indicação de um novo cimento endodôntico. *19<sup>th</sup> International Symposium on Metastable, Amorphous and Nanostructured Materials (ISMANAM)*, 2012.
- BARROS, C. M. B.; SILVA, M. C.; OLIVEIRA, S. V.; MARQUES, J. B.; SOARES, C. L. M.; FOOK, M. V. L. “Chemical analysis of incorporated hydroxyapatite to mineral trioxide aggregate”. *18<sup>th</sup> International Symposium on Metastable, Amorphous and Nanostructured Materials (ISMANAM)*, 2011.

## SIMBOLOGIA E ABREVIACÃO

ADA – American Dental Association

ANSI – American National Standards Institute

BET – Adsorção de Nitrogênio

CAVITY – Verniz Cavitário Intermediário

CCT – Centro de Ciências e tecnologia

CFC – Fosfato de cálcio

Cu – Cobre

$D_{BET}$  – Diâmetro médio equivalente (nm)

DRX – Difração de raios-X

DSC – Calorimetria diferencial exploratória

EDS – Espectroscopia por dispersão de energia

EDX – Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva

FDA – Food and Drugs Administration

FTIR – Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier

HAp – Hidroxiapatita

IRM – Material Restaurador Intermediário

IVPD – Câmara pulpar laboratorial, “*In Vitro Pulp Device*”

$k$  – Coeficiente de forma do ponto da rede recíproca

Kg – Quilograma

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MTA – Mineral trióxido agregado

MTA/HAp1% – Mineral trióxido agregado acrescido de 1% de hidroxiapatita

MTA/HAp3% – Mineral trióxido agregado acrescido de 3% de hidroxiapatita

MTA/HAp5% – Mineral trióxido agregado acrescido de 5% de hidroxiapatita

MTT – Análise colorimétrica do Metiltetrazolium

PA – Para análise

PLGA – Poli (lático-co-glicólico)

PMMA – Polimetilmetacrilato

RX - Aspecto Radiográfico

$S_{BET}$  – Área superficial determinada pelo método BET ( $m^2/g$ )

TCP – Fosfato tricálcio

TG – Termogravimetria

UEPB – Universidade Estadual da Paraíba

UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

USA – United States of America

OZE – Óxido de Zinco e Eugenol

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	25
<b>1.1 Objetivos</b> .....	29
1.1.1 Objetivo Geral .....	29
1.1.2 Objetivos Específicos .....	29
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	30
<b>2.1 Tecido Ósseo</b> .....	30
<b>2.2 O Dente</b> .....	33
<b>2.3 Indicações Clínicas na Endodontia</b> .....	34
<b>2.4 Biomateriais</b> .....	40
<b>2.5 Biocerâmicas</b> .....	42
<b>2.6 Cimentos Odontológicos</b> .....	44
<b>2.7 Agregado Trióxido Mineral (MTA)</b> .....	48
<b>2.8 Hidroxiapatita (HAp)</b> .....	50
<b>2.9 Estudos Clínicos e Aplicação de Cimentos</b> .....	56
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	68
<b>3.1 Materiais</b> .....	68
<b>3.2 Métodos</b> .....	69
3.2.1 Etapa I – Obtenção da Hidroxiapatita (HAp) dos Cimentos Endodônticos e Caracterização .....	69
3.2.1.1 Obtenção da Hidroxiapatita (HAp) .....	69
3.2.1.2 Preparação dos Cimentos Endodônticos MTA/HAp .....	70
3.2.1.3 Caracterização .....	71
3.2.1.3.1 <u>Difração de Raios X (DRX)</u> .....	71
3.2.1.3.2 <u>Fluorescência de Raios X (EDX)</u> .....	71



<u>3.2.1.3.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</u> .....	71
<u>3.2.1.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</u> .....	72
<u>3.2.1.3.5 Aspecto Radiográfico (RX)</u> .....	72
<u>3.2.1.3.6 Tempo de Endurecimento</u> .....	73
<u>3.2.1.3.7 Consistência</u> .....	75
3.2.2. ETAPA II – Ensaios <i>In Vivo</i> dos Cimentos Endodônticos.....	75
3.2.2.1 <i>Animais</i> .....	75
3.2.2.2 <i>Implantação In Vivo dos Compósitos</i> .....	76
3.2.2.3 <i>Preparação do Material de Implante</i> .....	78
3.2.2.4 <i>Procedimento Cirúrgico</i> .....	78
3.2.2.5 <i>Cuidados Pós Cirúrgico</i> .....	79
3.2.2.6 <i>Protocolo de Eutanásia</i> .....	79
3.2.2.7 <i>Caracterização</i> .....	82
3.2.2.7.1 <u>Avaliação Radiológica in vivo</u> .....	82
3.2.2.7.2 <u>Avaliação Histomorfológica</u> .....	83
3.2.2.7.3 <u>Avaliação Estatística</u> .....	84
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	85
<b>4.1 Difração de Raios – X (DRX)</b> .....	85
<b>4. 2 Fluorescência de Raios – X (EDX)</b> .....	86
<b>4. 3 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</b> .....	88
<b>4. 4. Microscopia Eletrônica de Varredura</b> .....	90
<b>4. 5. Aspecto Radiográfico (RX)</b> .....	93
<b>4. 6. Consistência</b> .....	97
<b>4. 7 Tempo de Endurecimento</b> .....	100
<b>4.8 Ensaio <i>In Vivo</i>: Aspecto Radiográfico</b> .....	102

4.8.1 Aspecto radiográfico após quinze dias do implante .....	104
4.8.2 Aspecto radiográfico após trinta dias do implante .....	105
4.8.3 Aspecto radiográfico após quarenta e cinco dias do implante.....	107
<b>4.9 Ensaio <i>In Vivo</i>: Aspecto Histomorfológico .....</b>	<b>109</b>
4.9.1 Aspecto histomorfológico após quinze dias do implante .....	109
4.9.2 Aspecto histomorfológico após trinta dias do implante.....	111
4.9.3 Aspecto histomorfológico após quarenta e cinco dias do implante .....	113
<b>4.10 Análise Estatística.....</b>	<b>116</b>
4.10.1 Avaliação estatística dos dados radiológicos .....	116
4.10.2 Avaliação estatística dos dados histomorfológicos .....	119
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>125</b>
<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>126</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>127</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>142</b>
<b>APÊNDICE A1 – Cálculo do percentual teórico da hidroxiapatita .....</b>	<b>142</b>
<b>APÊNDICE A2 – Cálculo do percentual teórico de hidroxiapatita nos cimentos C3, C4 e C5.....</b>	<b>144</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>145</b>
<b>ANEXO A – DESCRIÇÃO TÉCNICA DO MTA.....</b>	<b>145</b>
<b>ANEXO B – Impurezas presentes nos reagentes utilizados na obtenção da hidroxiapatita.....</b>	<b>147</b>
<b>ANEXO C – Fichas padrão da análise de DRX.....</b>	<b>148</b>
<b>C 1 - Ficha do JCPDS – 04-0877 para o óxido de alumínio.....</b>	<b>148</b>
<b>C 2 - Ficha do JCPDS – 72-1243 para a hidroxiapatita.....</b>	<b>149</b>
<b>C 3 - Ficha do JCPDS – 73-2077 para o óxido silicato de cálcio.....</b>	<b>150</b>
<b>C 4 - Ficha do JCPDS – 76-1730 para o óxido de bismuto.....</b>	<b>151</b>
<b>ANEXO D – Carta do Comitê de Ética.....</b>	<b>152</b>

<b>ANEXO E – Análise estatística detalhada da presença dos bioimplantes <i>in vivo</i>.</b> .....	153
<b>ANEXO F – Análise estatística detalhada da neoformação óssea.</b> .....	154
<b>ANEXO G – Média, desvio padrão e mediana do grau da neoformação óssea</b> .....	155
<b>ANEXO H – Avaliação do grau da reabsorção óssea</b> .....	156
<b>ANEXO I – Média, desvio padrão e mediana do grau da reabsorção óssea</b> .....	157
<b>ANEXO J – Avaliação do grau da fratura óssea</b> .....	158
<b>ANEXO K – Média e desvio padrão e mediana do grau da fratura óssea</b> .....	159
<b>ANEXO L – Avaliação do infiltrado inflamatório</b> .....	160
<b>ANEXO M – Média da avaliação do infiltrado inflamatório</b> .....	161
<b>ANEXO N – Avaliação da atividade osteoblástica</b> .....	162
<b>ANEXO O – Média da avaliação da atividade osteoblástica</b> .....	163
<b>ANEXO P – Avaliação da neoformação óssea</b> .....	164
<b>ANEXO Q – Média da avaliação da neoformação óssea</b> .....	165
<b>ANEXO R – Avaliação da reação de corpo estranho</b> .....	166
<b>ANEXO S – Média da avaliação da reação de corpo estranho</b> .....	167
<b>ANEXO T – Avaliação da área de fibrose</b> .....	168
<b>ANEXO U – Média da área de fibrose</b> .....	169
<b>ANEXO V – Avaliação da reação de granulação</b> .....	170
<b>ANEXO W – Média da reação de granulação</b> .....	171

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Representação esquemática do osso cortical e do osso trabecular.. 31
- Figura 2: Representação da estrutura interna de um osso longo..... 32
- Figura 3: Desenho esquemático do dente em corte transversal mostrando suas estruturas. .... 34
- Figura 4: Capeamento pulpar direto. (a) aplicação do gel para a realização da remoção química-mecânica do tecido infectado, (b) aspecto clínico da cavidade após a remoção da dentina infectada. (c) inserção do cimento endodôntico na cavidade e (d) aspecto clínico do dente restaurado. .... 35
- Figura 5: Pulpotomia e aplicação do material proteção pulpar com o cimento endodôntico. (a) aspecto clínico inicial mostrando o tecido infectado, (b) Remoção do teto da câmara pulpar com intenso sangramento, (c) Proteção do remanescente pulpar com cimento endodôntico e (d) Restauração final com resina posterior..... 36
- Figura 6: Perfurações por mecanismos iatrogênicos durante as manobras da terapia endodôntica. (a) evidência da perfuração radicular, (b) perfuração de furca com instrumentos endodônticos e (c) perfuração de furca com brocas. . 37
- Figura 7: Tratamento de perfuração endodôntica e da reabsorção radicular através do vedamento do defeito com um material selador. (a) imagem radiográfica de reabsorção interna, (b) tratamento endodôntico e preenchimento da reabsorção radicular e (c) iatrogenia através de instrumentos endodônticos, (d) tratamento endodôntico e selamento da perfuração..... 37
- Figura 8: Cirurgia Parendodôntica e Selamento da retrocavidade com MTA. (a) abertura da loja cirúrgica e exposição da raiz a ser tratada, (b) selamento apical da raiz tratada. .... 38

Figura 9: Anatomia topográfica pulpar e o aspecto anatômico e histológico de ápice em rizogênese. (a) diafanização do elemento dentário e visualização da complexidade da polpa dentária, (b) aspecto de rizogênese incompleta e (c) aspecto histológico de uma rizogênese incompleta. ....	39
Figura 10: Preparo de retrocavidade e retrobturação. (a) Retrocavidade confeccionada com pontas ultra-sônica e (b) Retrobturação com o cimento MTA.....	39
Figura 11: Formas de manipulação do MTA. (a) Consistência do MTA manipulado conforme o fabricante, (b) consistência do MTA manipulado com propilenoglicol. ....	49
Figura 12: Análise comparativa do selamento apical. (a) MTA manipulado com água e (b) com propilenoglicol. ....	50
Figura 13: Projeção da estrutura da HAp no plano perpendicular ao eixo c. ...	54
Figura 14: Fluxograma da obtenção da hidroxiapatita. ....	69
Figura 15: Tomada radiográfica periapical. ....	73
Figura 16: Moldes de aço inoxidável, cilíndricos e placa de vidro utilizados durante o ensaio de tempo de endurecimento. (a) cimentos C1 e C2 e (b) cimentos C3, C4 e C5. ....	74
Figura 17: Localização de implantação dos cimentos e distribuição dos grupos. (a) grupo A, (b) grupo B, (c) grupo C e (d) grupo D.....	77
Figura 18: Fluxograma de todo o procedimento cirúrgico e pós-operatório. ....	80
Figura 19: Fluxograma de todo o procedimento de eutanásia e retirada dos fêmures para a análise radiográfica. ....	81
Figura 20: Difratoograma de Raios-X dos cimentos estudados. ....	85
Figura 21: Espectrocopia na região do infravermelho para os cimentos estudados.....	89

Figura 22: Microscopia eletrônica de varredura do cimento C1: (a) aumento de 10000X e (b) aumento de 20000X. ....	90
Figura 23: Microscopia eletrônica de varredura do cimento C2: (a) aumento de 10000X e (b) aumento de 20000X. ....	91
Figura 24: Microscopia eletrônica de varredura do cimento C3. (a) aumento de 10000X e (b) aumento de 20000X. ....	92
Figura 25: Microscopia eletrônica de varredura do cimento C4. (a) aumento de 10000X e (b) aumento de 20000X. ....	92
Figura 26: Microscopia eletrônica de varredura do cimento C5. (a) aumento de 10000X e (b) aumento de 20000X. ....	93
Figura 27: Aspecto radiográfico do cimento C1 e C2: (a) elemento dentário com preenchimento do cimento C1, (b) radiopacidade do cimento C1,(c) elemento dentário com preenchimento do cimento C2 e (d) radiopacidade do C2.....	94
Figura 28: Aspecto radiográfico dos cimentos C3, C4 e C5. (a) elemento dentário com preenchimento do cimento C3, (b) radiopacidade do cimento C3, (c) elemento dentário com preenchimento do cimento C4 e (d) radiopacidade do cimento C4, (e) elemento dentário com preenchimento do cimento C5 e (e) radiopacidade do cimento C5.....	96
Figura 29: Consistência dos cimentos estudados evidenciando, da direita para a esquerda: o cimento e água destilada fornecida pelo fabricante, o momento da manipulação do cimento com a água destilada, o cimento após manipulação e endurecimento e a medida observada no paquímetro. ....	98
Figura 30: Determinação do tempo de endurecimento dos cimentos: (a) anéis preenchidos com os materiais C1 e C2, (b) anéis preenchidos com os materiais C3, C4 e C5, (c) detalhe do momento da perfuração com a agulha de Gilmore.....	100

Figura 31: Fêmures de rato Wistar e sua aparência radiográfica. (a) e (b) osso normal, (c) e (d) osso com defeito ósseo produzido cirurgicamente, (e) e (f) osso com o bioimplante inserido no defeito ósseo. ....	102
Figura 32: Ilustação dos graus de radiopacidade observados em tíbias de coelho. (a) grau 0, (b) grau 1, (c) grau 2. ....	103
Figura 33: Aspecto radiográfico dos fêmures dos animais após 15 dias da realização do implante. ....	104
Figura 34: Aspecto radiográfico dos fêmures dos animais após 30 dias da realização do implante. ....	106
Figura 35: Aspecto radiográfico dos fêmures dos animais após 45 dias da realização do implante. ....	108
Figura 36: Aspecto histomorfológico dos grupos após 15 dias do implante. (a) grupo A2, (b) grupo A1, (c) grupo B1, (d) grupo B2, (e) grupo C e (f) grupo D.....	110
Figura 37: Aspecto histomorfológico dos grupos após 30 dias do implante. (a) grupo A2, (b) grupo A1, (c) grupo B1, (d) grupo B2, (e) grupo C e (f) grupo D.....	112
Figura 38: Aspecto histomorfológico dos grupos após 45 dias do implante. (a) grupo A2, (b) grupo A1, (c) grupo B1, (d) grupo B2, (e) grupo C e (f) grupo D.....	114
Figura 39: Evolução da presença do bioimplante no defeito ósseo induzido cirurgicamente de acordo com o tempo após a implantação. ....	116
Figura 40: Evolução da neoformação óssea completa no defeito ósseo induzido cirurgicamente de acordo com o tempo após a implantação .....	117

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tipos, fórmula química e relação Ca/P das apatitas. ....	52
Tabela 2: Formas de utilização da hidroxiapatita usada em medicina e odontologia.....	53
Tabela 3: Nomenclatura adotada para designar os cimentos endodônticos. ...	70
Tabela 4: Descrição detalhada do cronograma da realização dos implantes. .	76
Tabela 5: Análise química por fluorescência de raios X dos cimentos estudados.....	86
Tabela 6: Resultados obtidos para a consistência dos cimentos. ....	97
Tabela 7: Tempo de endurecimento dos cimentos estudados. ....	101
Tabela 8: Classificação da radiopacidade .....	103
Tabela 9: Avaliação da presença dos bioimplantes segundo o grupo e tempo de avaliação. ....	153
Tabela 10: Avaliação do grau da neoformação óssea segundo o grupo e tempo de avaliação .....	154
Tabela 11: Média e desvio padrão e mediana do grau da neoformação óssea segundo o grupo e tempo de avaliação .....	155
Tabela 12: Avaliação do grau da reabsorção óssea segundo o grupo e tempo de avaliação .....	156
Tabela 13: Média e desvio padrão e mediana do grau da reabsorção óssea segundo o grupo e tempo de avaliação .....	157
Tabela 14: Avaliação do grau da fratura óssea segundo o grupo e tempo de avaliação .....	158



Tabela 15: Média e desvio padrão e mediana do grau da fratura óssea segundo o grupo e tempo de avaliação .....	159
Tabela 16: Avaliação do infiltrado inflamatório segundo o grupo e tempo de avaliação .....	160
Tabela 17: Média da avaliação do infiltrado inflamatório segundo o grupo e tempo de avaliação .....	161
Tabela 18: Avaliação da atividade osteoblástica segundo o grupo e tempo de avaliação .....	162
Tabela 19: Média da avaliação da atividade osteoblástica segundo o grupo e tempo de avaliação .....	163
Tabela 20: Avaliação da neoformação óssea segundo o grupo e tempo de avaliação .....	164
Tabela 21: Média da avaliação da neoformação óssea segundo o grupo e tempo de avaliação .....	165
Tabela 22: Avaliação da reação de corpo estranho segundo o grupo e tempo de avaliação .....	166
Tabela 23: Média da avaliação da reação de corpo estranho segundo o grupo e tempo de avaliação .....	167
Tabela 24: Avaliação da área de fibrose segundo o grupo e tempo de avaliação .....	168
Tabela 25: Média da área de fibrose segundo o grupo e tempo de avaliação .....	169
Tabela 26: Avaliação da reação de granulação segundo o grupo e tempo de avaliação .....	170
Tabela 27: Média da reação de granulação segundo o grupo e tempo de avaliação .....	171

## 1 INTRODUÇÃO

A odontologia estuda e trata o sistema estomatognático, o qual compreende a face, pescoço e cavidade bucal, abrangendo ossos, musculatura, articulações, tecidos moles e dentes. Desta maneira, o odontólogo atua na pesquisa, prevenção, diagnóstico e tratamento das afecções da cavidade oral e sua relação orgânica do sistema estomatognático citados acima, por meio de várias especialidades, dentre elas a endodontia que, atualmente, é considerada uma das mais importantes devido aos seus avanços científico e tecnológicos em relação ao aprimoramento das técnicas endodôndicas, à obtenção de novos cimentos e instrumentos rotatórios.

A endodontia é a ciência que envolve a etiologia, prevenção, diagnóstico e tratamento das alterações patológicas da polpa dentária e repercussões na região apical e periapical (LEONARDO, 2008).

A atuação do endodontista não se restringe ao tratamento endodôntico propriamente dito e sim à procedimentos clínicos como reparo de perfurações e reabsorções radiculares, cirurgias parendodônticas, apicificação, tratamento conservadores (capeamento pulpar e pulpotomia). Além das técnicas obturadoras e habilidade do profissional, o sucesso do tratamento endodôntico depende do emprego de um biocimento, capaz de promover um selamento hermético das comunicações entre o meio interno e externo do dente além de induzir à osteocondução (SANTOS, 2004).

Materiais de preenchimento como os cimento a base de hidróxido de cálcio (DESAI e CHANDLER, 2009), amálgama (SUMER et al., 2006; OKABE et al, 2003), IRM – material de restauração intermediário (SUMER et al., 2006; OKABE et al., 2003; SCHWARTZ-ARAD et al., 2003) e ionômero de vidro (SUMER et al., 2006; HAMMOUDA, 2009) foram usados e analisados como cimentos. Entretanto, a divergência dos resultados dos estudos com esses materiais mostraram que até então nenhum deles atendem às características desejáveis de um material selador adequado, que ofereça excelente selamento, de fácil manipulação, econômico, biocompatível e com capacidade de indução à cementogênese (formação do cimento) e osteogênese (formação de um novo osso) (MCNAMARA et al., 2010).

O agregado de trióxido mineral (MTA) surgiu na década de 1990 sendo utilizado experimentalmente durante anos, mas só teve sua aprovação para uso em humanos pela FDA (*Food and Drugs Administration, USA*) em 1998. Comercialmente foi lançado pela Dentsply – Tulsa Dental com o nome de *ProRoot* MTA. Este material reparador é atualmente o mais indicado para aplicações na endodontia, porém, apesar de ser um material biocompatível, não é osteocondutor (PARIROKH e TORABINEJAD, 2010).

Segundo Marion (2008), o primeiro trabalho realizado no Brasil com esse material foi idealizado por Soares (2006), que estudando a resposta pulpar ao MTA, comparada ao hidróxido de cálcio, em pulpotomias, em dentes de cães verificou histologicamente a formação completa de ponte dentina em 89,28% dos dentes de cães no qual usaram o MTA como material após pulpotomias.

O MTA é constituído principalmente por trióxidos e por outros óxidos minerais, em menor quantidade. Trata-se de um ligante hidráulico constituído por 75% de cimento *Portland* e 25% de óxido de bismuto, cuja finalidade é conferir radiopacidade ao material. Na prática, isto torna o MTA mais radiopaco do que a própria dentina, sendo facilmente evidenciado em radiografias. Possui como indicações clínicas: capeamento pulpar, pulpotomia, reparação de perfurações e reabsorção radiculares e cirurgia parendodôntica. O selamento marginal é uma das mais importantes propriedades deste cimento, que tem como finalidade evitar a percolação de microrganismos e de fluidos para o interior do canal e da cavidade (loja) cirúrgica, impedindo assim a proliferação bacteriana e a liberação de endotoxinas, um dos fatores responsáveis pela reabsorção do tecido ósseo (RUIZ et al, 2003).

Além disso, a grande vantagem do MTA frente aos demais materiais é o fato de se tornar biocompatível aos tecidos dentais. Isso deriva de sua capacidade em dissociar íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{OH}^-$  tão breve quanto seu contato com a água é efetuado. Assim, o pH de 10,2 passa a 12,5 três horas após a mistura com a água. Por causa dessa alcalinidade, semelhante à de uma solução de hidróxido de cálcio, atribui-se ao MTA a característica de tornar o meio inóspito ao crescimento de bactérias e de induzir a formação de tecido duro quando utilizado como material reparador (BORTOLUZZI et al., 2007).

Contudo, o MTA possui limitações como baixa resistência mecânica à compressão (30 MPa) após período de 24 horas. Aos 21 dias esta resistência

mecânica chega à 40 MPa. Isto representa um valor relativamente baixo comparado à resistência à compressão do amálgama e prata, 312 MPa, o que permite sua utilização apenas como “retro-obturador”, ou selador de defeitos na comunicação da raiz com o periodonto lateral, em função da ausência de cargas que o solicitam diretamente. Essa especificidade eleva seu preço de mercado excedendo os US\$ 100/g. Outras limitações do MTA, consistem no escurecimento do dente ao longo do tempo, e o seu longo tempo de endurecimento, superior à 1 hora (BORTOLUZZI et al., 2007).

Associado a tudo isso, o MTA não tem função de osteocondução e apresenta um bom selamento marginal o que impede a infiltração irritante oriunda dos tecidos periapicais. A reposição tecidual por parte do tecido ósseo ocorre de maneira lenta principalmente em cirurgias parodontodônticas e áreas extensas de reabsorção, necessitando assim de um material que conduza à neoformação em curto prazo. Associado a toda esta problemática, o custo do MTA é alto, o que leva a necessidade de investimentos em pesquisas que torne este cimento mais acessível à população endodôntica em geral, e também a necessidade de tornar o MTA um material osteocundutor, motiva a busca crescente por novas pesquisas.

Assim, a busca pela melhoria na qualidade dos materiais é objeto de estudos científicos e tecnológicos na área da ciência dos materiais, a qual hoje associada à nanotecnologia tem sido ferramenta para geração de novas tecnologias que contribuem para o desenvolvimento de novos materiais ou melhoria das propriedades dos materiais já existentes. Quando se fala em materiais, o universo é abrangente, podemos restringir a três materiais específicos, os polímeros, os metais e as cerâmicas. A partir destes três podemos fazer combinação de forma a desenvolver outros novos materiais, por exemplo, os compósitos.

Dentro deste universo de materiais, no qual está incluído o MTA, um material que vem ganhando destaque em várias aplicações diferentes, seja na medicina, engenharia, química, bioquímica e que vislumbra uma gama de novas aplicações específicas são as cerâmicas conhecidas como fosfatos de cálcio. Dentre esta classe de cerâmica, a hidroxiapatita (HAp) é um dos fosfatos cuja relação cálcio/fósforo é de 1,67, a qual possibilita propriedades semelhantes ao osso humano. Esta característica levou nos últimos anos, a

estudos científicos deste material por vários pesquisadores, principalmente para aplicações tecnológicas na área de saúde, voltada ao uso clínico, com o intuito de substituir o enxerto ósseo autógeno em cirurgias ortopédicas e odontológicas (ORÉFICE et al, 2012).

Um substituto ósseo ideal deve ser biocompatível e gradualmente substituído por novo tecido ósseo, além de possuir propriedade osteoindutiva ou osteocondutiva. Embora as cerâmicas inorgânicas não demonstrem osteoindução, elas certamente possuem habilidades osteocondutoras, bem como uma notável habilidade de se ligar diretamente ao osso. Uma das vantagens das biocerâmicas à base de fosfatos de cálcio, utilizadas como enxertos ósseos, é que tanto os íons cálcio quanto os íons fosfato não interferem na função celular e fisiológica dos tecidos adjacentes, proporcionando uma resposta tecidual favorável ao tratamento (ORÉFICE et al, 2012).

Estudos realizados por E'gues (2005), Araújo et al, (2007), Delfino et al, (2010), Garcia (2010) e Aragones (2007), reportam que a hidroxiapatita quando incorporada à silicatos, colágenos e proteína morfogenéticas melhoram a reparação tecidual de uma forma mais natural, o que possibilita boa estabilidade *in vivo* ao longo do tempo sob condições fisiológicas normais.

No tratamento endodôntico convencional, em alguns casos a cirurgia é necessária para preservar o elemento dentário. Nas cirurgias pararendodônticas, após ostectomia e remoção da lesão, tem-se a presença de um defeito ósseo de tamanho variável, que deve ser preenchido em sua totalidade com um novo osso durante a reparação da região. Entretanto isso depende de vários fatores, tanto gerais (deficiências sistêmicas) como locais (o diâmetro da área a ser tratada). O que se observa com frequência é que nos defeitos maiores leva-se muito tempo, até que seja totalmente preenchido com um novo tecido ósseo.

Diante desta problemática, propõe-se nesta pesquisa incorporar a hidroxiapatita (HAp) no cimento endodôntico MTA, visando a ocorrência de osteocondução na área da alteração patológica do elemento dentário e das cavidades cirúrgicas, sem que esta incorporação altera a capacidade de selamento marginal do MTA.

A finalidade de incorporar a HAp no MTA está vinculada à necessidade de tornar o material osteocondutor, uma vez que pesquisas utilizando

hidroxiapatita têm relatado que a mesma é capaz de conduzir a neoformação óssea.

## 1.1 Objetivos

### 1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar *in vivo*, defeitos ósseos de fêmures de ratos o efeito da adição 1, 3 e 5% em massa de hidroxiapatita (HAp) no cimento endodôntico MTA objetivando adquirir novos cimentos endododônticos com propriedade osteocondutora.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar hidroxiapatita (HAp) pelo método de precipitação.
- Obter cimentos endodônticos compostos de MTA/HAp, com incorporação de 1, 3 e 5% em massa de HAp ao MTA.
- Caracterizar a HAp, o MTA comercial e os cimentos endodônticos MTA/HAp por difração de raios X (DRX) espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), fluorescência de raios X (EDX), microscopia eletrônica de varredura (MEV), consistência, tempo de endurecimento e radiopacidade.liar *in vivo* a presença ou não de osteocondução dos cimentos endodônticos MTA/HAp depositados em falhas ósseas de fêmures de ratos *Wistar*.
- Avaliar radiologicamente e histologicamente o material pós- implante.
- Avaliar qual a concentração de hidroxiapatita fornece a melhor propriedade de osteocondução ao MTA.
- A partir desta composição de HAp, indicar a produção de um novo cimento endodôntico com alta capacidade osteocondutora, que permita a utilização do mesmo na Saúde Pública.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Tecido Ósseo

O osso é um tecido altamente especializado que, embora aparente estar num estado imobilizado e petrificado, possui funções fisiológicas fundamentais (AN e DRAUGHN, 2000). Cada osso é considerado por si só como um órgão, constituído por diversos tecidos diferentes, que atuam em conjunto: tecido ósseo, cartilagem, tecido conjuntivo denso, epitélio, tecido hematopoiético, tecido adiposo e tecido nervoso (TORTORA e DERRICKSON, 2012).

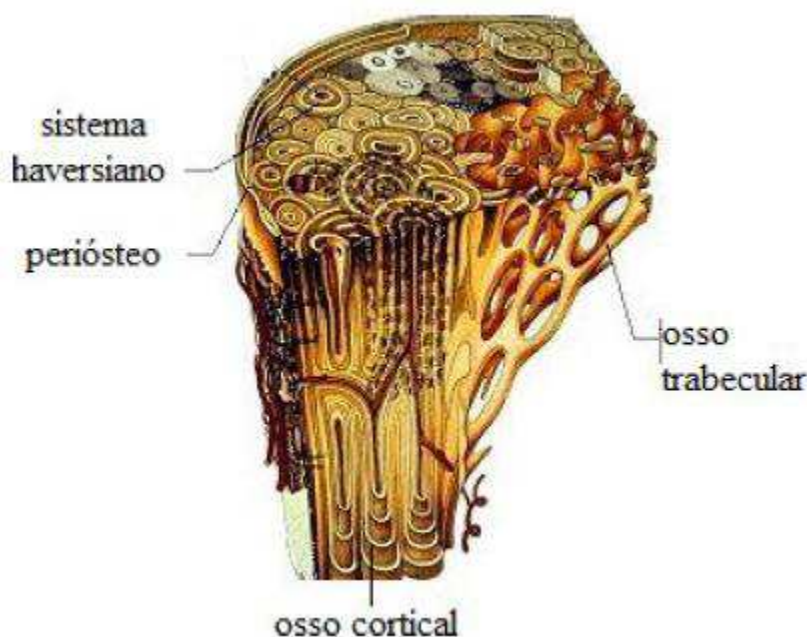
O tecido ósseo e o sistema esquelético são responsáveis por varias funções básicas, tais como suporte, proteção, armazenamento de minerais, produção de células sanguíneas e armazenamento de energia química (TORTORA e DERRICKSON, 2012). As suas características ao nível da rigidez, elasticidade (moderada), plasticidade (muito limitada) e fragilidade fazem dele um tecido ideal tanto para o movimento como para o suporte e para a proteção dos tecidos moles (AN e DRAUGHN, 2000).

O osso consiste principalmente numa matriz óssea, na qual se distinguem dois tipos de componentes: a matriz orgânica e as substâncias minerais. Esta matriz fornece força e estabilidade ao osso. A matriz orgânica consiste majoritariamente em fibras de colágeno tipo I, organizadas de forma ordenada, que representam 90% de toda a matriz. O colágeno tipo I consiste numa hélice tripla de dois monômeros de colágeno  $\alpha 1$  e um monômero  $\alpha 2$ . Os 10% restantes são constituídos por proteínas diferentes, como os proteoglicanos e os fosfolipídios. A substância mineral é a hidroxiapatita de cálcio (AN e DRAUGHN, 2000; BORON e BOULPAEP, 2003).

O osso é constituído por dois tipos de tecidos ósseos principais: osso cortical e osso trabecular. O osso cortical, ou compacto, constitui a camada exterior de todos os ossos e representa cerca de 80% da massa óssea total. No caso dos ossos longos, grupo onde se inclui o fêmur, o osso cortical constitui também uma parte do interior do corpo destes ossos. É um tecido denso composto majoritariamente por mineral ósseo e elementos da matriz extracelular, interrompidos apenas por vasos sanguíneos penetrantes e

osteócitos (BORON e BOULPAEP, 2003). Este tecido proporciona proteção e suporte, e ajuda os ossos longos a resistirem à tensão aplicada pelo peso do corpo (TORTORA e DERRICKSON, 2012). A unidade fundamental do osso cortical e o osteon – ou sistema haversiano, que é uma estrutura em forma de tubo que consiste num canal haversiano, rodeado por lamelas em forma de anel conforme apresentado na Figura 1 (BORON e BOULPAEP, 2003).

Figura 1: Representação esquemática do osso cortical e do osso trabecular.



Fonte: Adaptado de Boron e Boulpaep, 2003.

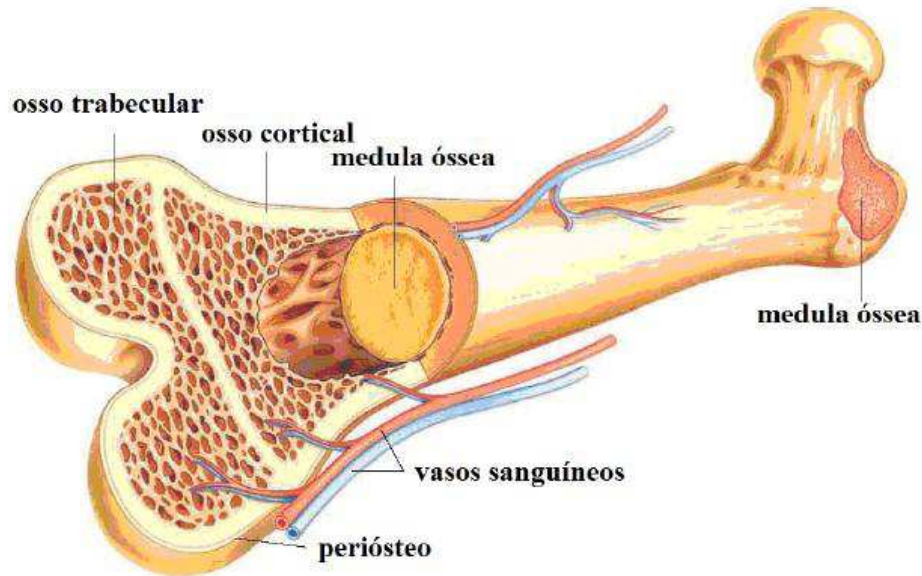
O osso trabecular, ou esponjoso, constitui cerca de 20% da massa óssea total, e é encontrado, por exemplo, na epífise e metáfise de ossos longos (Figura 2) e na medula dos ossos chatos. Este tipo de osso, ao contrário do osso cortical, possui uma aparência esponjosa. A unidade constituinte do osso trabecular é a trabécula, um entrelaçado irregular de finas colunas de osso, revestido em várias áreas por osteoblastos e osteoclastos, que fazem com que este osso esteja constantemente a ser renovado, a um ritmo muito superior ao do osso cortical (TORTORA e DERRICKSON, 2012; BORON e BOULPAEP, 2003).

A principal diferença entre osso compacto e trabecular está na sua porosidade, que no osso compacto varia entre 5 e 30% (densidade aparente



aproximadamente igual a  $1,8 \text{ g/cm}^3$ ) e no osso trabecular entre 30% e mais de 90% (densidade aparente entre  $0,1$  e  $0,9 \text{ g/cm}^3$ ) (AN e DRAUGHN, 2000).

Figura 2: Representação da estrutura interna de um osso longo.



Fonte: Adaptado de Boron e Boulpaep, 2003.

Os elementos celulares remodelam continuamente o osso de modo a permitir o seu crescimento e a sua adaptação às tensões de carregamento aplicadas (BORON e BOULPAEP, 2003). Consideram-se 4 tipos de células presentes no tecido ósseo: células osteogênicas, osteoblastos, osteócitos e osteoclastos.

As células osteogênicas encontram-se na porção interna do periosteio e no endosteio; os **osteoblastos** são responsáveis pela formação do osso e estão localizados na superfície deste, sintetizando colágenos e outros componentes orgânicos necessários para construir o tecido ósseo; os **osteócitos** são as células mais abundantes no osso e são responsáveis pela manutenção do metabolismo diário do osso, nomeadamente a troca de nutrientes e produtos catabólicos com o sangue; os **osteoclastos** são células de grandes dimensões que possuem enzimas lisossomais que participam na destruição da matriz óssea, num processo denominado reabsorção (TORTORA e DERRICKSON, 2012).

**Osteogênese** é a formação e desenvolvimento do osso. Neste mecanismo, os biomateriais são capazes de promover a formação óssea por carregarem consigo células ósseas. Células osteogênicas podem encorajar a formação óssea em tecidos mucosos ou ativar rapidamente a neoformação nos sítios ósseos. O osso autógeno intra-oral e extra-oral são exemplos de materiais de enxertos com propriedades osteogênicas e são capazes de formar tecido ósseo mesmo na ausência de células mesenquimais indiferenciadas (LINDHE et al., 2005).

**Osteoindução** é o ato ou processo de estimular a osteogênese. Envolve a formação de um novo tecido ósseo, pela diferenciação local das células mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos, sob a influência de um ou mais agentes indutores, como as proteínas ósseas morfogenéticas (BMP), presentes nos enxertos (LINDHE et al., 2005).

Na **osteocondução** o biomaterial funciona como uma matriz física ou arcabouço para deposição de novo osso oriundo das imediações. É caracterizada por um processo de crescimento e invasão de vasos sanguíneos, de tecidos perivasculares e de células osteoprogenitoras do sítio receptor para o enxerto. O biomaterial é gradativamente reabsorvido e simultaneamente substituído por novo tecido ósseo (DINOPOULOS et al., 2012; CARVALHO et al., 2004).

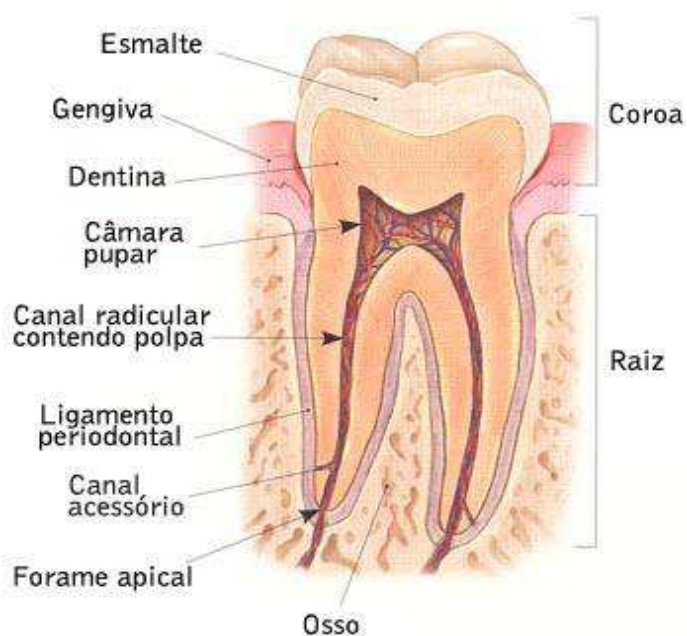
## 2.2 O Dente

São órgãos mineralizados, esbranquiçados, resistentes, de origem epidérmica, implantados em orifícios ósseos próprios, situados nos maxilares e na mandíbula. Os dentes têm como função cortar e triturar os alimentos sólidos, tornando-os acessíveis às ações dos sucos digestivos, auxilia na fonação. São formados, em grande parte, de sais minerais, principalmente cálcio e fósforo, além de magnésio, flúor e outros elementos (DUARTE, 2003).

Do ponto de vista anatômico pode ser dividido em coroa (parte mais externa do dente), colo (segmento que delimita a coroa anatômica da raiz, também denominada de junção amelocemetária) e raiz (parte que fica alojada no interior do osso alveolar formando o alvéolo sendo fixada por meio do ligamento periodontal e recoberta por cimento) os quais são constituídos por

quatro tecidos diferentes: esmalte, tecido mineralizado constituído de 97% de carbonato-hidroxiapatita, dentina, formada por 70% de hidroxiapatita, 20% de material inorgânico e 10% de água, polpa e cemento um tecido conjuntivo mineralizado lembrando osso (DUARTE, 2003), representados na Figura 3.

Figura 3: Desenho esquemático do dente em corte transversal mostrando suas estruturas.



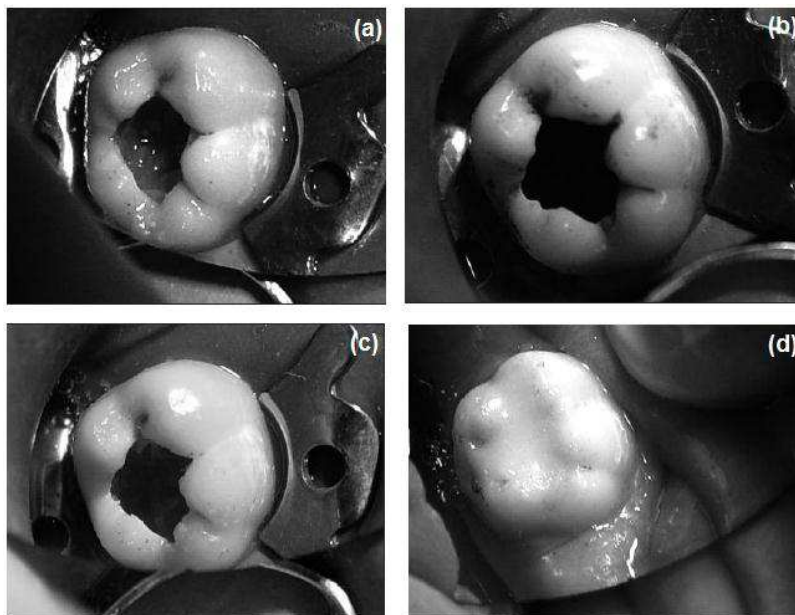
Fonte: Só, 2007

### 2.3 Indicações Clínicas na Endodontia

A Endodontia caracteriza-se por ser uma especialidade da Odontologia que trata e previne o desenvolvimento das periapicopatias como: capeamento pulpar direto, pulpotomia, perfuração e reabsorção radicular como também nas cirurgias parendodônticas.

O capeamento pulpar direto é o procedimento onde a polpa dental exposta é recoberta com curativo ou cimento, protegendo-a de injúrias adicionais e permitindo reparo, como ilustrado na Figura 4.

Figura 4: Capeamento pulpar direto. (a) aplicação do gel para a realização da remoção química-mecânica do tecido infectado, (b) aspecto clínico da cavidade após a remoção da dentina infectada. (c) inserção do cimento endodôntico na cavidade e (d) aspecto clínico do dente restaurado.



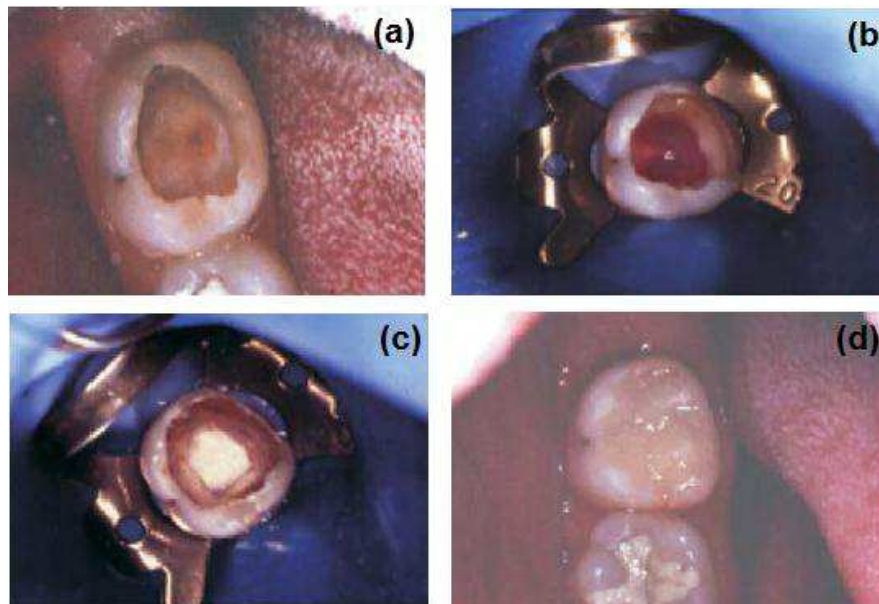
Fonte: Guedes et al., 2006.

Pulpotomia é o procedimento clínico indicado para o tecido pulpar de dentes jovens exposto por cáries ou envolvido em trauma. Trata-se da remoção cirúrgica da polpa coronária, sob condições assépticas e atraumáticas, e aplicação do material de proteção pulpar conforme ilustrado da Figura 5 (SALES et al., 2003).

Ficou demonstrado mediante pesquisas que a polpa dental é um tecido conjuntivo semelhante aos demais tecidos conjuntivos do organismo humano. Daí tornou-se claro que a polpa pode ser reparada, como qualquer outro tecido do organismo, quando a agressão é removida (SALES et al., 2003).

A partir desse conhecimento, inúmeros materiais têm sido utilizados sobre a polpa dental exposta e/ou o complexo dentinopulpar, dentre os quais se destacam: óxido de zinco e eugenol (composto aromático que está presente no cravo, canela e mirra), proteína osteogênica, corticosteríode e agregado trióxido mineral (MTA), como forma de tratamento conservador da polpa dental (NIE et al., 2011).

Figura 5: Pulpotomia e aplicação do material proteção pulpar com o cimento endodôntico. (a) aspecto clínico inicial mostrando o tecido infectado, (b) Remoção do teto da câmara pulpar com intenso sangramento, (c) Proteção do remanescente pulpar com cimento endodôntico e (d) Restauração final com resina posterior.



Fonte: Sales et al., 2003

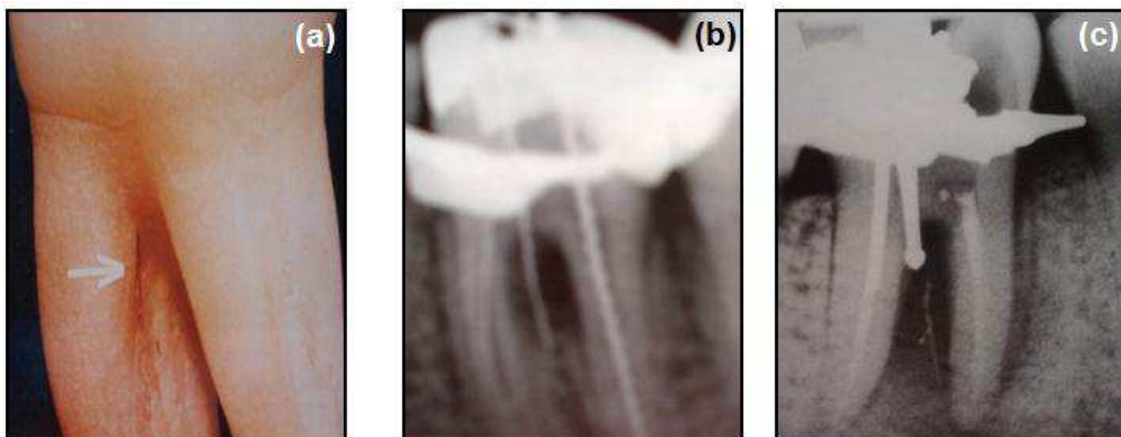
Na perfuração e reabsorção radicular de acordo com Magalhães e Werneck (2008), a instalação de comunicações da cavidade pulpar com os tecidos periodontais decorre de processos patológicos como lesões cariosas de grande extensão ou por mecanismos iatrogênicos durante as manobras da terapia endodôntica (incorreta direção de trepanação, desgaste dentinário excessivo, uso inadvertido de instrumentos rotatórios) ou também nos procedimentos restauradores pós-endodontia (confeção de retentores intraradicular).

Quando ocorre uma perfuração endodôntica, a área adjacente à mesma (ligamento periodontal e osso alveolar) é destruída em maior ou menor intensidade, dependendo da extensão da penetração e do calibre do instrumento que a ocasionou. Destruído o osso alveolar, forma-se um tecido de granulação, o qual poderá invaginar para o interior do dente à custa do trajeto da perfuração. Dependendo do nível da crista óssea e do grau de destruição do osso na área da perfuração, pode-se formar uma bolsa periodontal. Junto a esses eventos, o cimento e a dentina adjacentes poderão se apresentar com variados graus de reabsorção (COELHO et al., 2005; BRAMANTE, 2003).



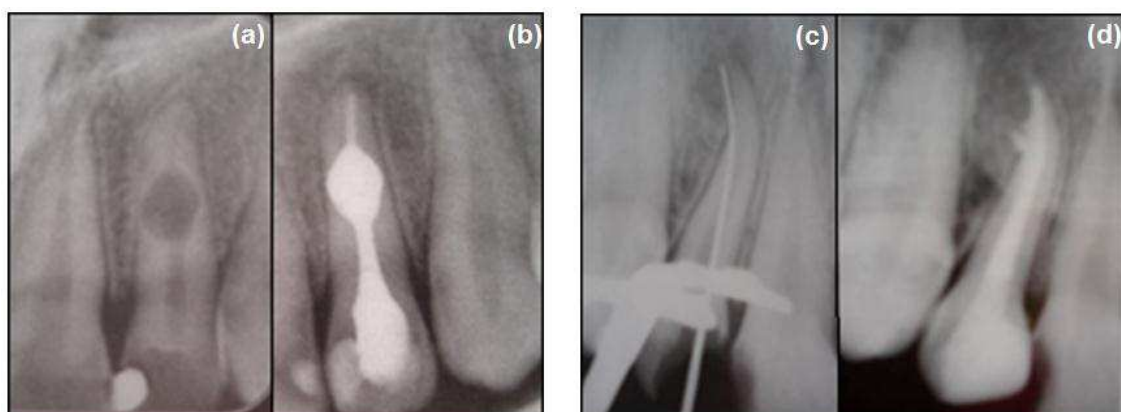
As Figuras 6 e 7 apresentam as perfurações por mecanismos iatrogênicos durante as manobras endodôntica.

Figura 6: Perfurações por mecanismos iatrogênicos durante as manobras da terapia endodôntica. (a) evidência da perfuração radicular, (b) perfuração de furca com instrumentos endodônticos e (c) perfuração de furca com brocas.



Fonte: Zuolo, 2009.

Figura 7: Tratamento de perfuração endodôntica e da reabsorção radicular através do vedamento do defeito com um material selador. (a) imagem radiográfica de reabsorção interna, (b) tratamento endodôntico e preenchimento da reabsorção radicular e (c) iatrogenia através de instrumentos endodônticos, (d) tratamento endodôntico e selamento da perfuração.

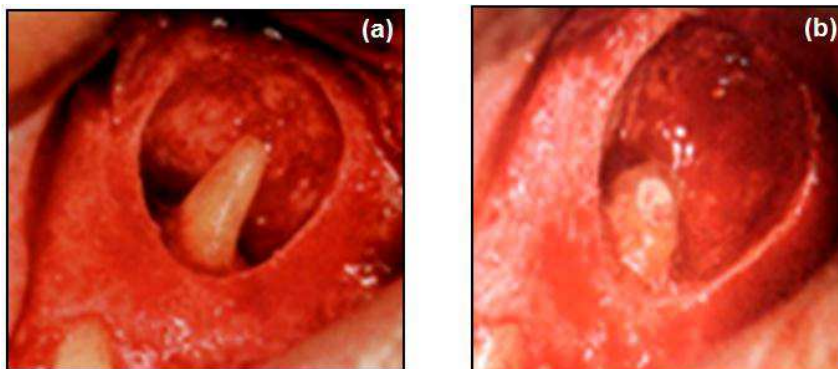


Fonte: Só, 2007.

A cirurgia parendodôntica é um procedimento cirúrgico que visa a resolução de problemas criados pelo tratamento endodôntico ou não solucionáveis por eles é também conhecida como cirurgia apical, radicular, endodôntica e periradicular (TSESIS et al., 2009).

O objetivo da cirurgia parentodôntica é remover a patologia, como mostrado na Figura 8, para evitar a sua recorrência e facilitar o reparo tecidual. Levando-se em consideração que o material empregado para o tratamento dessa injúria permanece em íntimo contato com os tecidos perirradiculares e que sua biocompatibilidade é essencial para que ocorra o processo de reparo na região injuriada, o mesmo deve apresentar propriedades físicas, químicas e biológicas que o viabilizem para esse fim, não influenciando negativamente sobre as células que participam do processo de reparo e não atuando como um corpo estranho perpetuando a injúria (ORSO e FILHO, 2006).

Figura 8: Cirurgia Parentodôntica e Selamento da retrocavidade com MTA. (a) abertura da loja cirúrgica e exposição da raiz a ser tratada, (b) selamento apical da raiz tratada.

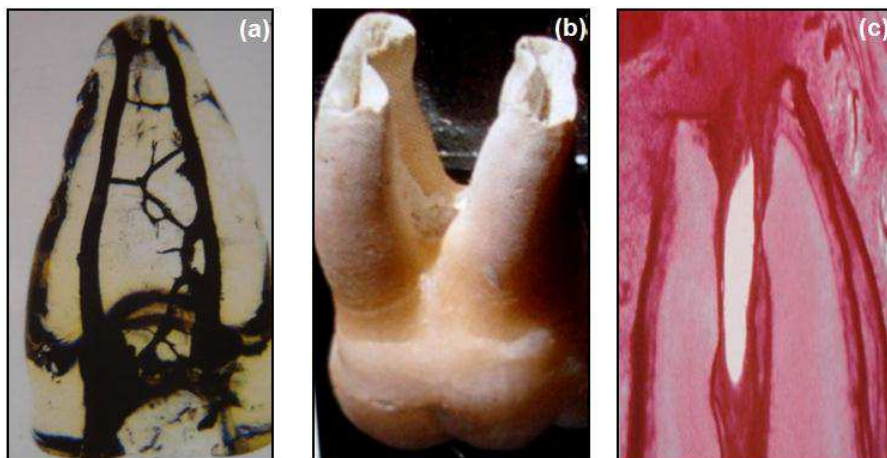


Fonte: Só, 2007.

Assim, a escolha do material para selamento da perfuração deve basear-se nos seguintes requisitos: facilidade de uso, biocompatibilidade, não ser solúvel aos fluidos teciduais, reabsorvível quando extravasado através da fagocitose, induzir osteogênese e cementogênese, não ser irritante, ter facilidade de obtenção, ser radiopaco e apresentar bom selamento marginal (TSESIS et al, 2009).

Os avanços científicos e tecnológicos visam obter um cimento selador específico capaz de vencer a complexidade anatômica pulpar e promover a reparação tecidual, conforme ilustrado na Figura 9.

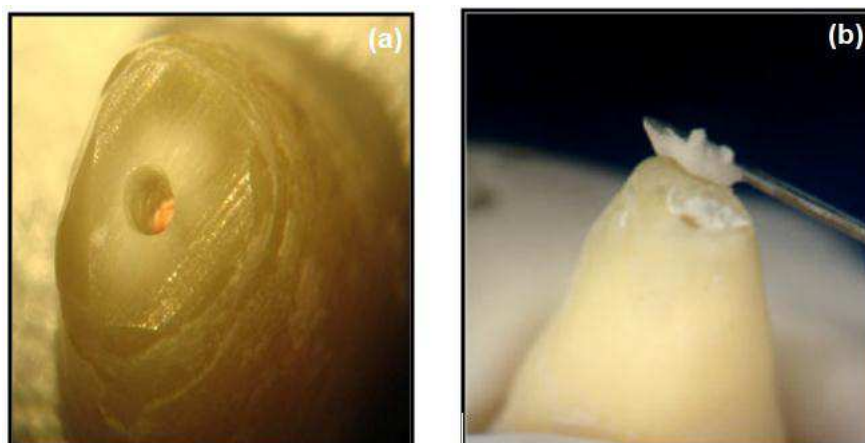
Figura 9: Anatomia topográfica pulpar e o aspecto anatômico e histológico de ápice em rizogênese. (a) diafanização do elemento dentário e visualização da complexidade da polpa dentária, (b) aspecto visual de rizogênese incompleta e (c) aspecto histológico de uma rizogênese incompleta.



Fonte: Só, 2007.

Na cirurgia parestodônica a retrobturação é uma das modalidades cirúrgicas que tem como objetivo induzir um melhor vedamento apical. Este procedimento é utilizado com a finalidade de proporcionar um selamento eficaz das retrocavidades, como pode ser visto na Figura 10. Neste procedimento evita-se a percolação apical, uma vez que o selamento marginal deficiente é considerado como a maior causa dos fracassos nas cirurgias parestodônicas, assim, torna-se imprescindível a escolha de materiais retrobturadores que se adaptem e selem hermeticamente a retrocavidade (GOMES et al., 2003).

Figura 10: Preparo de retrocavidade e retrobturação. (a) Retrocavidade confeccionada com pontas ultra-sônica e (b) Retrobturação com o cimento MTA.



Fonte: Barros, 2008.



O Selamento marginal consiste em uma das etapas mais importantes da cirurgia pararendodôntica, uma vez que o mesmo é responsável pelo êxito do tratamento e/ou retratamento. Dentre os métodos de avaliação dos procedimentos instituídos durante a cirurgia pararendodôntica, os mais difundidos são aqueles relacionados à verificação do vedamento apical, da adaptação marginal, da biocompatibilidade e da ação antibacteriana, pois possibilitam avaliar as técnicas utilizadas para confecção das retrocavidades, bem como, investigar o selamento marginal (OPDAM et al., 2006).

Dentre os materiais como MTA, *Cavit* (material restaurador temporário), óxido de zinco e eugenol, hidróxido de cálcio, amálgama, guta-percha, ionômero de vidro, destaca-se o MTA por apresentar uma boa capacidade de selamento apical, ação antimicrobiana, radiopacidade, insolúvel aos fluidos teciduais e biocompatibilidade, capacidade de induzir a mineralização do tecido dentinário (GONÇALVES et al., 2002; BRAMANTE et al., 2003).

## **2.4 Biomateriais**

Biomaterial é definido como qualquer substância ou combinação de substâncias, exceto fármacos, de origem natural ou sintética, que podem ser usadas durante qualquer período de tempo, como parte ou como sistemas que tratam, aumentam ou substituem quaisquer tecidos, órgãos ou funções do corpo (AZEVEDO et al., 2007).

De uma maneira geral um biomaterial deve possuir as seguintes propriedades (FONSECA et al., 2005):

- Ser biocompatível;
- Não ser tóxico ou carcinogênico;
- Ser quimicamente projetado para a função do uso;
- Possuir estabilidade mecânica;
- Ter peso e densidade adequados;
- Ter baixo custo e ser de fácil fabricação;
- Estimular reações biológicas favoráveis em relação a sua função de uso.

De acordo com sua natureza química, um biomaterial pode ser classificado em duas grandes categorias: os naturais que incluem o colágeno, a seda, a queratina, a elastina, polissacarídeos e tecidos como o pericárdio bovino e os sintéticos que incluem os polímeros sintéticos, os metais e ligas metálicas e as cerâmicas. Levando-se em consideração a resposta biológica causada pelo biomaterial no tecido hospedeiro, pode-se classificá-lo (GRANJEIRO et al., 2009):

- **Bioinertes** são aqueles que não provocam reação de corpo estranho no organismo e estão em contato direto com o tecido receptor, por exemplo, Titânio.
- **Biotolerados** modernamente aceitos pelo tecido receptor e são geralmente envolvidos por tecido fibroso, por exemplo, aço inoxidável e polimetilmetacrilato (PMMA).
- **Bioativos** entram em contato direto com os tecidos vivos devido aos íons:  $\text{Ca}^{+2}$  e/ou  $\text{PO}_4^{-2}$  presentes nos substitutos ósseos favorecendo uma ligação química com o tecido ósseo, por exemplo, Hidroxapatita (HAp) e biovidros.
- **Reabsorvíveis** são lentamente degradáveis e gradualmente substituídos pelo tecido, por exemplo, fosfato tricálcio (TCP) e biovidros.

Diante do supracitado a biocompatibilidade é o ponto de destaque, pois o sucesso do uso de biomateriais depende diretamente desta característica que é predominantemente encontrada nas biocerâmicas (DUARTE et al., 2006).

O potencial dos biomateriais sintéticos na regeneração dos tecidos duros é relevante, pois não danificam tecidos saudáveis, não trazem riscos de contaminações virais e bacterianas, e podem ser disponibilizados comercialmente (OLIVEIRA et al., 2010). Entretanto, métodos complexos e onerosos são usados para o projeto e desenvolvimento de tais materiais.

Vários são os critérios que um material precisa atender para ser enquadrado como um biomaterial. Uma definição prática é que “biomaterial é tudo que, de modo contínuo ou intermitente, entre em contato com fluídos corpóreos, mesmo que esteja localizado fora do corpo”. Assim pinos e placas de fixação externas não são considerados biomateriais; bisturis, lâminas e demais instrumentos cirúrgicos, ao contrário, o são.

Os principais avanços no campo dos biomateriais têm ocorrido principalmente devido ao aumento do número de pacientes nos hospitais, que deseja melhorar sua qualidade de vida, com o intuito de substituir a perda total ou a parte de um membro do corpo humano. Também o desenvolvimento de técnicas cirúrgicas tem expandido a demanda por próteses, implantes e equipamentos médicos (OLIVEIRA et al., 2010).

A regeneração óssea é necessária em muitos problemas clínicos especialmente em ortopedia e odontologia (CHARRIÈRE et al., 2003). As terapias usuais empregando material de enxerto retirado de um sítio diferente num paciente (autoenxerto), de outro doador humano (homoenxerto) ou de outra espécie viva ou não-viva (hetero ou xenoenxerto) têm sido restringidas devido à disponibilidade limitada de material, às complicações cirúrgicas e de prejuízo do sítio de colheita, e ao risco de transmissão de doenças (OLIVEIRA et al., 2007a). Há múltiplas razões clínicas para desenvolver alternativas na engenharia de tecido ósseo, incluindo a necessidade de melhorar os materiais de preenchimento que podem ser utilizados na reconstrução de grandes defeitos ortopédicos e também melhorar os implantes ortopédicos que são mecanicamente mais adequados biologicamente (DINOPOULOS et al., 2012).

## **2.5 Biocerâmicas**

A utilização de cerâmicas como biomateriais remonta a 1894, quando Dreesman relatou o uso de gesso ( $\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ ) como um possível substituto para ossos. Este material apresenta uma resistência mecânica muito baixa e é completamente reabsorvido pelo organismo, resultando em uma rápida fragmentação e degradação. Tais propriedades pouco atrativas praticamente o excluíram. A década de 70 marcou o início do uso mais intenso de materiais cerâmicos com propriedades que possibilitam a sua classificação como biocerâmicas. A primeira biocerâmica com uso muito difundido neste período foi a alumina densa ( $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ ), que se apresenta como bioinerte. Este material, devido a sua biocompatibilidade e resistência, vêm sendo usado com frequência até hoje em próteses ortopédicas que substituam ossos ou parte deles que são submetidos, na sua atividade funcional, a esforços elevados (ORÉFICE et al., 2012).

Exemplos típicos do emprego de alumina são as próteses para a substituição da cabeça do fêmur que faz a articulação com o ílaco e a substituição de dentes por dentes artificiais implantáveis. Além da alumina densa, outras cerâmicas como a zircônia ( $ZrO_2$ ), o dióxido de titânio ( $TiO_2$ ), os fosfatos de cálcio e as vitrocerâmicas de sílica/fosfato de cálcio, são utilizadas atualmente (SANTOS, 2002; FOOK, 2005).

O uso das biocerâmicas tem se estendido desde o emprego isolado do material até outras formas de utilização. Devido ao aumento do número de materiais cerâmicos utilizados como biomateriais e os diversos aspectos envolvidos na interação com os tecidos vivos se têm procurado classificá-los em diversos grupos. No entanto, o termo ainda é comumente utilizado, tendo sido definido por June Wilson como sendo um material que apresenta uma resposta interfacial mínima que não resulta na ligação ou rejeição do tecido hospedeiro, formando uma cápsula fibrosa ao redor do material. Como exemplos de biocerâmicas bioinertes podemos citar a alumina ( $\alpha-Al_2O_3$ ), zircônia ( $ZrO_2$ ) e dióxido de titânio ( $TiO_2$ ) (ORÉFICE et al., 2012).

Por outro lado, uma biocerâmica bioativa (termo ainda aceito) é definida como aquela que induz uma atividade biológica específica. Como exemplos destacam-se a hidroxiapatita [ $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ], o fosfato tricálcio [ $Ca_3(PO_4)_2$ ] e os biovidros. Uma das desvantagens apresentadas pelas biocerâmicas é a reduzida resistência mecânica, que restringe seu uso a regiões que não requeiram sustentação. Uma forma de contornar tal restrição é a utilização de metais revestidos com cerâmicas por técnicas como o Plasma Spray, que permitem aliar as vantagens intrínsecas das biocerâmicas com a resistência do metal (ORÉFICE et al., 2012).

As biocerâmicas têm sido empregadas na forma densa e na forma porosa. Apesar do aumento da porosidade diminuir a resistência mecânica do material isoladamente, a existência de poros com dimensões adequadas pode favorecer o crescimento de tecido através deles, fazendo com que ocorra um forte entrelaçamento do tecido com o implante, aumentando, por conseguinte, a resistência do material *in vivo* (ORÉFICE et al., 2012).

## 2.6 Cimentos Odontológicos

O cimento é definido como materiais constituídos por um pó e um líquido, os quais, ao serem misturados formam uma pasta que endurece espontaneamente à temperatura ambiente ou corporal e une duas superfícies. O cimento odontológico é um produto de reação química entre um ácido e uma substância básica, sendo mais comum um óxido ou hidróxido. Na odontologia o cimento presta-se não somente como um agente de cimentação, mas também, como isolante térmico, elétrico e químico na proteção pulpar (BARROS, 2008).

Geralmente, cimentos odontológicos devem ser não tóxicos e devem apresentar uma forte ligação aos tecidos dentários assim como possuir propriedades mecânicas e químicas (RIBEIRO et al, 2007). Entretanto, estes têm apresentado muitas desvantagens, especialmente a solubilidade e desintegração sofrida no meio bucal, além do aspecto relacionado à toxicidade e baixa resistência mecânica. São exemplos de cimentos odontológicos: ionômero de vidro, MTA, IRM e os à base de fosfatos de cálcio.

Os cimentos de ionômero de vidro são compósitos de matriz polimérica contendo vidros do sistema  $\text{SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3\text{-CaF}_2$  (eventualmente com adições de  $\text{CaO}$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$  e/ou  $\text{Na}_2\text{O}$ ) designados como vidros ionoméricos. São consolidados mediante uma reação de presa (endurecimento) resultante da permuta iônica entre a fase vítrea da superfície dos grânulos de vidro moído (com caráter básico) e um monômero orgânico com caráter ácido (um ácido polialcenólico) dissolvido na solução que embebe os grãos (KENNY e BUGGY, 2003). Estes cimentos são utilizados em oto-cirurgia (ouvido médio) (QUEIROZ, 2003), em medicina dentária (VIEIRA et al., 2006), ou no preenchimento de cavidades e fissuras ósseas (KIM e LIM, 2004).

Os cimentos de ionômeros de vidro não são em geral bioativos, em grande parte devido ao efeito inibidor do polialcenoato (HAMMOUDA, 2009), embora a ação de biovidros pulverizados possa induzir a mineralização da dentina (YLI-URPO et al., 2004). Estes se impuseram no mercado devido a uma boa adesividade, coeficiente de expansão térmica compatível com o dos tecidos dentários, boa resistência à tração e compressão, e estética aceitável (melhor que a dos cimentos alternativos de fosfato de zinco). A liberação lenta e prolongada de  $\text{F}^-$  por estes cimentos é considerada anticariogênica e poderá

contribuir para a consolidação do tecido ósseo ou dentário circundante (SILVA et al., 2010; PARADELLA, 2004).

Os cimentos de fosfato de cálcio são tipicamente misturas de pó de fosfato de cálcio e fosfato de sódio em meio líquido, formando assim uma pasta que endurece espontaneamente a temperatura ambiente ou corpórea, de forma que um ou mais constituintes do pó são dissolvidos e um ou mais compostos são precipitados, tendo como resultado um ou mais polítipos de fosfatos de cálcio (SOARES, 2006).

Dependendo das fases de fosfato de cálcio que se formam ou se precipitam, quatro tipos de biocimentos de fosfato de cálcio (CFC) podem ser identificados: bruxita, hidroxiapatita, hidroxiapatita deficiente em cálcio e fosfato de cálcio amorfo. Dentre os fosfatos, a hidroxiapatita deficiente em cálcio é a que mais se assemelha com as características mineralógicas da estrutura óssea (CAMARGO et al., 2006). Além disso, os CFCs, quando comparados com os cimentos acrílicos, apresentam uma enorme vantagem: o aquecimento provocado pela sua reação de “pega” é imperceptível.

O comportamento biológico *in vivo* dos CFC's tem sido exaustivamente estudado em diversos modelos animais (MORAES et al., 2004; OLIVEIRA, 2009a). Genericamente, os CFC's comportam-se *in vivo* de maneira semelhante às biocerâmicas de fosfato tricálcico, ou seja, é reabsorvido devido à atividade osteoclástica, formando ao mesmo tempo novo tecido ósseo na interface osso-implante. Desta forma, os CFC's não atuam como substitutos permanentes do osso, apenas temporário, sendo lentamente substituídos por tecido ósseo de nova formação. Este comportamento típico tem sido denominado osteotransdutividade. A velocidade em que esse fenômeno ocorre, depende fortemente do tipo de CFC, do sítio de implantação e da idade do paciente receptor, entre outros fatores (ALONSO, 2011).

As principais vantagens dos cimentos de fosfato de cálcio são:

- Não é preciso dar forma a cavidade;
- A cavidade pode ser mínima;
- O fato da sua preparação pode ser realizado durante o ato cirúrgico;
- Um bom contato entre osso e implante;
- Biocompatibilidade e bioatividade.

Os cimentos de fosfato de cálcio devem possuir os seguintes requisitos necessários aos cimentos biomédicos para a aplicação clínica (RIBEIRO et al., 2007):

- Ausência de toxicidade;
- Perfeita adesão ao tecido duro;
- Ausência de propriedades alogênicas ou carcinogênicas;
- Fácil manipulação;
- Dar pega e endurecer *in vivo* dentro de um tempo razoável (10 minutos);
- Resistência mecânica apropriada e permanente;
- Reabsorbilidade;
- Condutor e estimulador da formação de novo tecido ósseo;
- Tempos de pega e endurecimento controláveis.

Os requisitos ideais de um CFC para reparações ósseas são os seguintes (OLIVEIRA, 2009b):

- O tempo requerido para mistura deve ser curto: 1 min ou menos;
- O tempo de pega deve ser tal que permita a manipulação apropriada do material sem ser demasiadamente longo: a pega deve iniciar-se por volta de 5 min e finalizar-se entre 15 ou 20 min;
- O tempo de preparo da massa (tempo durante o qual se pode moldar o material sem afetar sua resistência final) deve ser próximo ao tempo de pega inicial: por volta de 5 min;
- O tempo de coesão (o momento a partir do qual o cimento não se incha nem se desintegra em contato com os fluidos corporais) deve ser mais curto que o tempo de preparo e de pega inicial;
- A resistência à compressão final deve ser pelo menos similar à do tecido reparado;
- Não deve produzir calor durante a pega;
- O pH deve ser neutro (6,5-8,5) durante e depois da pega para evitar efeitos citotóxicos.

Um cimento hidráulico pode ser definido como um material que tem o seguinte comportamento: o componente sólido pode formar uma massa plástica quando misturado com água ou uma solução aquosa, e ao mesmo

tempo resiste a esses líquidos. A massa perde a sua plasticidade, sua resistência mecânica aumenta progressivamente até alcançando seu valor máximo em torno de 15MPa (pressão média da mordida humana) depois de um período de tempo que pode ser de 6 horas a 2 dias. O cimento *Portland* e o cimento aluminoso são exemplos típicos desta classe. O gesso, mesmo endurecendo quando misturado com água, não pertence a essa classe devido à sua não-resistência à ação prolongada neste líquido, no qual é solúvel (OLIVEIRA et al, 2007b).

A pega e endurecimento são resultados de uma reação química que pode ser de dissolução, precipitação ou hidrólise (COLEMAN et. al., 2007). A pega é identificada como certo estágio coloidal durante o desenvolvimento da rede cristalina, inicialmente fraca e tixotrópica, enquanto o processo de endurecimento denota o desenvolvimento de uma estrutura cristalina mais forte e irreversível. Esta teoria geral segue aquela de *Le Chatelier* que atribui o endurecimento à cristalização, mas a introdução do conceito de um estágio coloidal inicial tem o mérito de proporcionar explicações de uma variedade de fenômenos associados à medição e pega de cimentos. O tempo durante o qual a pasta de cimento se comporta eminentemente em forma tixotrópica, denominado tempo de pega, está estritamente relacionado ao tempo de trabalho, isto é, ao tempo disponível para se preparar e fazer a colocação definitiva do cimento. O método utilizado para se medir esse tempo de pega, considerado como o tempo a partir do qual a agulha do aparelho usado não penetra completamente a massa do cimento, é realizado por um aparelho denominado Vicat (MANGIN et al., 2003).

Cimentos de silicato de cálcio tais como MTA (agregado trióxido mineral) e derivados de materiais *Portland*, são cimentos hidráulicos compostos principalmente de silicato tricálcio, aluminato tricálcio e gesso. Quando hidratado estes componentes hidrofílicos passa por uma série de reações físico-químicas, resultando na formação de um gel nano-poroso de silicato de cálcio hidratado, com uma fração solúvel de *Portland* ou hidróxido de cálcio e aluminato de cálcio de fases hidratadas (CAMILLERI, 2007). Uma importante propriedade é que este pode ser utilizado em ambientes úmidos e molhado, tais como água, sangue e outros fluidos, portanto sendo útil para cirurgia ortopédica e odontológica (GANDOLFI et al., 2010).



O MTA é um derivado do cimento *Portland* com propriedades químicas similares e foi inicialmente desenvolvido como um material de enchimento de raiz dentário (*root-end dental filling*). Este material tem apresentado características de propriedades mecânicas, físicas e biológicas significativas quando aplicado em meio biológico; isto tem despertado grande interesse por parte das clínicas dentárias e ortopédicas. Estudos têm mostrado que MTA pode ser um material alternativo, viável em certas aplicações médicas, tal como, no capeamento (*capping*) de tecido de polpa dentária, raiz, fechamento, reparo da perfuração da raiz, bem como um material de enchimento de raiz dentário. Além de apresentar boa capacidade de vedação quando colocado em contato direto com a polpa dentária e tecidos perirradiculares (ao redor da raiz dos dentes) (KAO et al., 2009).

## **2.7 Agregado Trióxido Mineral (MTA)**

De acordo com Saghiri et al. (2008), o MTA foi desenvolvido na Universidade de Loma Linda, Califórnia, EUA, com o intuito de selar as comunicações existentes entre as porções internas e externas do dente.

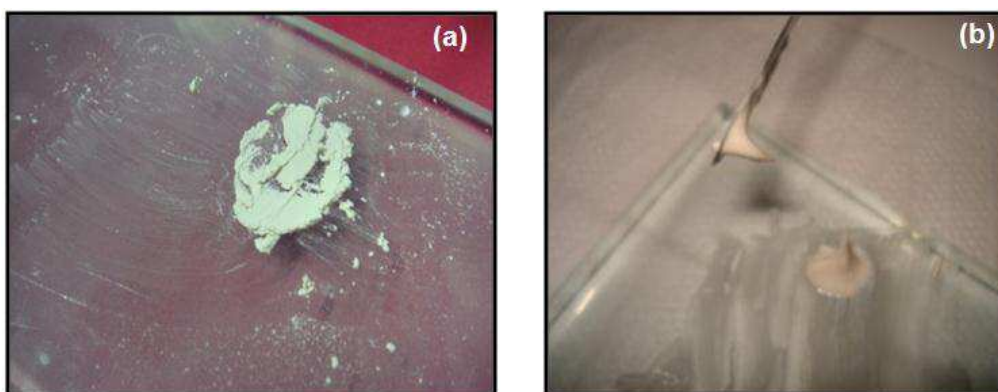
O MTA apresenta-se sob a forma de um pó cinzento ou branco que se mistura com água destilada na proporção 3:1. Este pó é constituído por partículas hidrofílicas de silicato tricálcico, aluminato tricálcico, óxido tricálcico, óxido de silicato, óxido de bismuto, entre outros óxidos minerais e íons de cálcio e fósforo. A hidratação do pó de MTA em geral origina um gel coloidal, que solidifica em 3 horas, no MTA da *ProRoot*<sup>®</sup> e 15 minutos no MTA *Angelus*<sup>®</sup> (COELHO et al., 2005).

Segundo estudo de Parirokh e Torabinejad et al. (2010), o pH inicial é de 10,2, sendo que 3 horas após a mistura, este aumenta para 12,5, quando então permanece constante. O sucesso deste cimento no processo de reparo tecidual pode estar relacionado com o pH alcalino o que torna o meio inadequado para proliferação bacteriana. O MTA quando em meio aquoso libera  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{OH}^-$  onde presença destes íons no líquido tissular parece ter relação direta com a ação antimicrobiana e formação de barreira de tecido mineralizado (REYES-CARMONA et al., 2011, ROBERTS et al., 2008; BORTOLUZZI et al., 2007).

Entretanto, Holland et al. (2007) analisando os veículos usados na manipulação do MTA constataram que quando manipulado com veículo aquoso o MTA apresentava dificuldades no preenchimento do canal radicular. Baseado nesse estudo, propôs o emprego do propilenoglicol como veículo de manipulação, obtendo no final do experimento comportamento biológico semelhante ao preparado com água destilada, independente do nível de obturação do canal.

Barros (2008) realizou um estudo comparativo *in vitro* do selamento apical em retrobturações onde foi utilizado o MTA-Angelus<sup>®</sup>, seguindo os procedimentos dos fabricantes e o MTA Angelus<sup>®</sup> associado ao propilenoglicol, foi avaliada a capacidade seladora apical e a consistência do cimento como ilustrado na Figura 11.

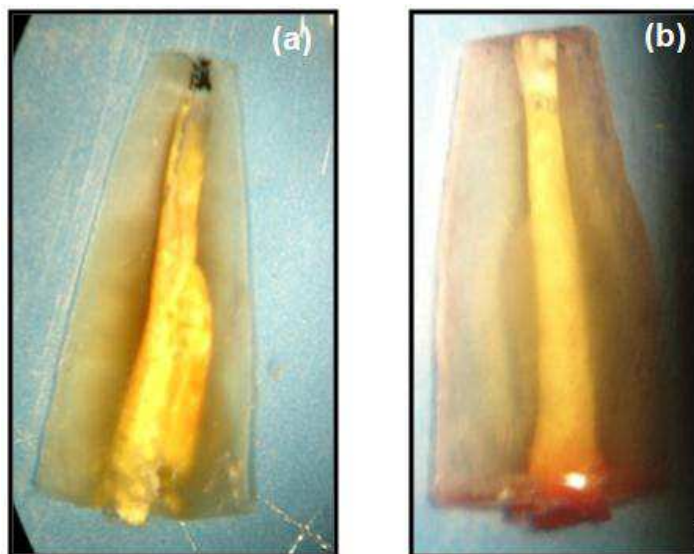
Figura 11: Formas de manipulação do MTA. (a) Consistência do MTA manipulado conforme o fabricante, (b) consistência do MTA manipulado com propilenoglicol.



Fonte: Barros, 2008.

Barros (2008) concluiu que o MTA comercial apresentou bom selamento apical, porém uma das desvantagens é a manipulação com água destilada, que deixa uma consistência arenosa e dificulta a sua inserção nos retropreparos. Por outro lado, o MTA associado ao propilenoglicol propiciou um excelente selamento apical, facilidade na manipulação e inserção nos retropreparos, além de uma consistência viscosa, como pode ser visto na Figura 12.

Figura 12: Análise comparativa do selamento apical. (a) MTA manipulado com água e (b) com propilenoglicol.



Fonte: Barros, 2008.

O sucesso da cirurgia parestodôntica está intimamente relacionado com o selamento apical e a neoformação óssea. Portanto, a escolha de um material selador deve levar em consideração as suas propriedades físico-químicas e biológicas capazes de induzir e/ou conduzir a reparação tecidual (BARROS, 2008; MARION, 2008). Testes de penetração de corantes, infiltração bacteriana e de fluidos são algumas das formas utilizadas para avaliação do selamento apical (BALLAL et al, 2010).

## 2.8 Hidroxiapatita (HAp)

Os fosfatos de cálcio despertam grande interesse biológico e médico devido a sua ocorrência em diferentes espécies animais e no homem. Exemplo da ocorrência dos fosfatos em humanos é o próprio esqueleto que é formado por 20% de componentes orgânicos, 69% de fosfatos de cálcio e 9% de água. Dos componentes orgânicos, pode-se citar o colágeno, a matriz extracelular e os componentes celulares que atuam nos processos de dissolução e formação óssea. A parte inorgânica consiste de uma fase amorfa e uma fase cristalina, formada pela HAp que é o principal constituinte (TORKITTIKUL e CHAIPANICH, 2012).

Materiais cerâmicos à base de fosfatos cálcio, na forma de implantes porosos ou materiais particulados, vêm demonstrando serem adequados para recolocações de tecidos ósseos quando estes estão submetidos apenas a pequenas solicitações mecânicas. Estes materiais quando se degradam formam sais de cálcio e fosfato, sendo muito utilizados para o preenchimento de cavidades ósseas, como cimentos (TORKITTIKUL e CHAIPANICH, 2012).

Os representantes mais usados do grupo de materiais sintéticos bioativos fosfatos de cálcio (Ca/P) são a hidroxiapatita,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , e o  $\beta$ -fosfato tricálcico,  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , devido à osteocondutividade, estrutura cristalográfica e composição química semelhante ao tecido esquelético (EPPEL e TADIC, 2003), sendo cada vez maior a aplicação desses materiais na área médico-odontológica (PEÑA e VALLET-REGI, 2003).

Além da sua ocorrência biológica, a HAp pode ser sintetizada em laboratório por reações de estado sólido e por meio do método úmido. As sínteses no estado sólido requerem altas temperaturas, mas o material obtido é muito cristalino e geralmente estequiométrico. A hidroxiapatita vem sendo sintetizada por diversos métodos: precipitação em solução aquosa (via direta), reação no estado sólido (via seca), método hidrotérmico (via úmida) e processo sol-gel. Sendo que o método por via direta vem sendo bastante relatado na literatura por apresentar bom rendimento, baixo custo e utilizar temperatura relativamente baixa (OLIVEIRA, 2009b).

Os métodos úmidos são divididos em dois grupos: a precipitação em solução aquosa e o método hidrotermal. Por meio do método úmido podem-se preparar materiais com diferentes morfologias, estequiometria e diferentes cristalinidades. No método de precipitação, a temperatura de preparação não excede os 90°C, podem ser preparados cristais de dimensões nanométricas com formas variadas: do tipo agulha, lâmina e bastões. As condições de preparação (temperatura e tempo) influenciam diretamente na estequiometria, razão Ca/P e cristalinidade da HAp (DOURADO, 2006).

As possíveis relações Ca/P das apatitas, seus nomes e fórmulas estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Tipos, fórmula química e relação Ca/P das apatitas.

<b>Fosfato de cálcio</b>	<b>Fórmula química</b>	<b>Ca/P</b>
Fosfato tetracálcico (TeCP)	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$	2,0
Hidroxiapatita (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67
Fosfato de cálcio amorfo (ACP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,5
Fosfato tricálcico ( $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ ) (TCP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
Fosfato octacálcico (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
Mono-hidrogênio fosfato de cálcio dihidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
Mono-hidrogênio fosfato de cálcio (DCP)	$\text{CaHPO}_4$	1,0
Pirofosfato de cálcio (CPP)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	1,0
Pirofosfato de cálcio dihidratado (CPPD)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
Fosfato heptacálcico (HCP)	$\text{Ca}_7(\text{P}_5\text{O}_{16})_2$	0,7
Di-hidrogênio fosfato tetracálcico (TDHP)	$\text{Ca}_4\text{H}_2\text{P}_6\text{O}_{20}$	0,67
Fosfato monocálcico mono-hidratado (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5
Metafosfato de cálcio ( $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ ) (CMP)	$\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$	0,5

Fonte: Dourado, 2006.

De forma genérica, as biocerâmicas de fosfato de cálcio degradam, com uma velocidade dada pela seguinte ordem:  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} > \text{CaHPO}_4 > \text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O} > \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 > \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . A reabsorção do material que representa esta degradação é causada pela dissolução, que depende do produto de solubilidade do material e do pH local no meio fisiológico, pela desintegração física em partículas menores e, ainda, por fatores biológicos, como a fagocitose, a presença de leucócitos e de mediadores químicos que causam a redução do pH local (HABRAKEN et al., 2010).

Para  $\text{Ca/P} < 1$ , a acidez e a solubilidade são extremamente altas, e ambos os parâmetros decrescem substancialmente para relações Ca/P próximas de 1,67, que é o valor da hidroxiapatita estequiométrica,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  (VALLET-REGÍ e GONZÁLEZ-CALBET, 2004). A velocidade de reabsorção pode aumentar com o aumento da área superficial ( $A_{\text{pó}} > A_{\text{sólido poroso}} > A_{\text{sólido denso}}$ ), com o decréscimo da cristalinidade e, no caso da

hidroxiapatita, pela substituição de  $\text{CO}_3^{2-}$  nos sítios de fosfato e hidroxila por  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$  nos sítios de cálcio (HABRAKEN et al., 2010).

Na literatura médica, a HAp é utilizada rotineiramente em intervenções odontológicas, cirurgias plásticas reconstrutivas e em cirurgias ortopédicas, devido as suas propriedades de biocompatibilidade. Como exemplos citam-se o aumento de rebordo alveolar, como coadjuvante na colocação de implantes metálicos, na reconstrução buco-maxilo-facial, no reparo e substituição de paredes orbitárias, no preenchimento de cavidades anoftálmicas, como envoltório para equipamentos percutâneos, na regeneração guiada de tecidos ósseos e no recobrimento de implantes metálicos e próteses de quadril (NETO, 2007; COSTA et al, 2009).

A Tabela 2 encontram-se apresentados exemplos da hidroxiapatita e suas principais aplicações

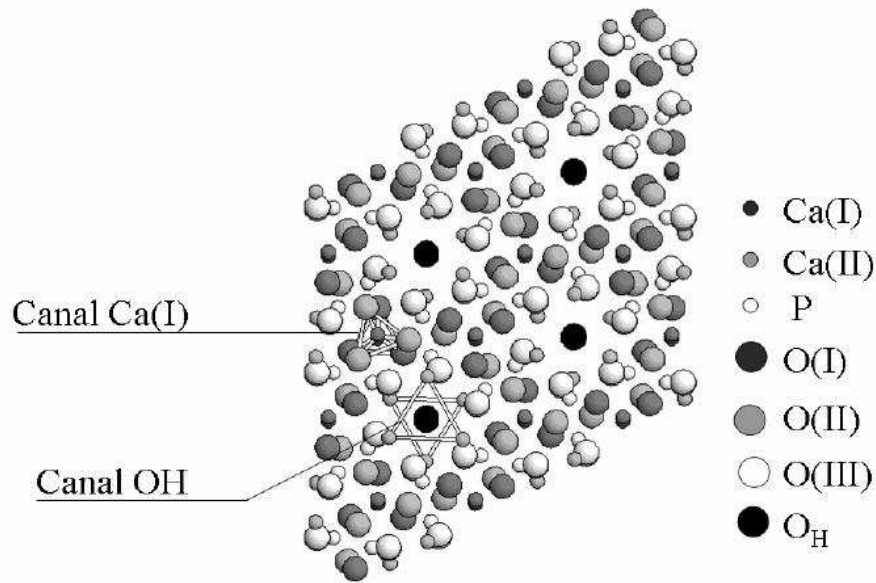
Tabela 2: Formas de utilização da hidroxiapatita usada em medicina e odontologia.

<b>APLICAÇÕES</b>	<b>FORMAS</b>
Matriz ou suporte para crescimento ósseo	Grãos, porosa
Osso artificial	Grãos, densa, porosa
Cimento ósseo	Pó com PMMA
Articulações artificiais	Metal recoberto com HAp
Próteses vasculares e traqueais	Porosa ou densa
Terminais pericutâneos	Densa
Sistema de liberação densa	Densa ou pó

Fonte: Costa et al, 2009.

Segundo Dourado (2006) a microestrutura da hidroxiapatita (HAp) consiste de uma célula unitária hexagonal com parâmetros de rede  $a = b = 0.942 \text{ nm}$  e  $c = 0.688 \text{ nm}$ . A célula unitária da HA é formada por 10 íons de  $\text{Ca}^{2+}$ , 6 íons de fosfatos  $\text{PO}_4^{3-}$  e 2 íons de hidroxila  $\text{OH}^-$ , conforme é mostrado na Figura 13.

Figura 13: Projeção da estrutura da HAp no plano perpendicular ao eixo c.



Fonte: Dourado, 2006.

A forma sintética da hidroxiapatita apresenta similaridade química e cristalográfica, entretanto, não idêntica à hidroxiapatita de ocorrência natural. Esse material cerâmico é sintetizado na forma cristalina em pH baixo e então sintetizado entre 700 e 1300°C para formar uma massa sólida de hidroxiapatita. Este tipo de hidroxiapatita sólida está disponível em duas formas densa e porosa (MAIA et al, 2010):

**Hidroxiapatita densa:** é inteiramente sintética, não apresenta poros e pode ser fabricada em blocos ou grãos. É de difícil conformação e não permite o crescimento interno de tecido. Entretanto, os grânulos apresentam maior adaptabilidade de contorno que os blocos, mas não integridade estrutural intrínseca e não se torna mecanicamente estável até ser envolvida pelo tecido ósteo-fibroso. Os grânulos são difíceis de serem mantidos dentro do local desejado do implante e há possibilidade de migração para áreas não pretendidas após alguns meses ou anos. A hidroxiapatita densa pode atingir uma resistência a compressão de até 600 MPa, mas possui baixa resistência contra fadiga por causa de sua fragilidade. A resistência a compressão decai com a porosidade e com níveis crescentes de fosfato tricálcio no material.

**Hidroxiapatita porosa:** pode ser produzida sinteticamente ou originada dos esqueletos de corais marinhos. O esqueleto de carbonato de cálcio do coral é convertido quimicamente em hidroxiapatita e a estrutura porosa original do coral é preservada. A vantagem significativa da hidroxiapatita porosa é permitir o crescimento interno do tecido ósseo e é fixada pelo osso circunjacente em algumas semanas. Por causa da dificuldade de conformação devido à suscetibilidade de fratura, sua aplicação tem sido amplamente utilizada fora das áreas de pressão como enxerto sobre camada ou espaçador em osteotomia facial.

Diversas mudanças ocorrem na estrutura e estequiometria quando sujeita a tratamentos térmicos. O aquecimento a temperaturas menores de 250°C induz à perda de água fisicamente adsorvida. Em temperaturas entre 250 – 400°C, a água de cristalização e íons de impureza de  $\text{HPO}_4^{2-}$  são eliminados. Na faixa de temperatura entre 400 – 850°C, os íons de  $\text{CO}_3^{2-}$  (carbonato) do tipo *a* que substituem os íons de  $\text{OH}^-$  na rede da HA e do tipo *b* que substituem os íons de  $\text{PO}_4^{3-}$ , são eliminados. Em temperaturas acima de 850°C ocorre a desidratação da HAp, e a perda de íons de  $\text{OH}^-$ . A decomposição da HAp se dá a temperaturas acima de 1050°C (DOURADO, 2006).

A literatura especializada estabeleceu a necessidade da presença de poros nas cerâmicas, para permitir o crescimento de novo osso. A porosidade das cerâmicas influenciaria na sua osteocondutividade por formar um arcabouço para migração de vasos sanguíneos e deposição de novo osso no sítio de implantação. A atividade celular do cimento de fosfato tricálcico (TCP) e da hidroxiapatita (HAp) é estabelecida pelas interações de natureza química ocorridas entre a cerâmica e o tecido implantado, permitindo a proliferação de fibroblastos, osteoclastos, osteoblastos, macrófagos e células gigantes. A porosidade, como também o tamanho da partícula, poderá influenciar a taxa de degradação da combinação, assim como, as propriedades biomecânicas do implante (NETO, 2007).

Os cimentos osteocondutores de fosfato de cálcio foram introduzidos na prática cirúrgica como auxiliares na fixação interna para tratamento de fraturas específicas. Estes cimentos, ao endurecerem, não produzem calor, apresentam resistência a força compressiva e, ainda, são remodelados lentamente pelo



organismo vivo. O objetivo principal da utilização dos cimentos é preencher espaços na metáfise óssea, reduzindo a necessidade de enxertos ósseos (NETO, 2007).

## **2.9 Estudos Clínicos e Aplicação de Cimentos**

Neto (2003) empregou hidroxiapatita em artrodeses experimentais tarsocrurais em cães e realizou avaliações radiográficas, histológicas e de microscopia eletrônica de varredura aos 120 dias de pós-operatório e concluiu que a hidroxiapatita foi osteointegrada e auxiliou na fusão óssea como agente osteocondutor. A cerâmica se mostrou bioativa o suficiente para promover crescimento de osso diretamente sobre o implante, assim como, a sua absorção e substituição por osso novo simultaneamente. O mesmo autor realizou, ainda, 25 artrodeses com indicação clínica com emprego da hidroxiapatita como alternativa ao enxerto ósseo autógeno esponjoso. O tempo de fusão óssea das artrodeses foi variável, levando em consideração a idade, espécie, trauma ocorrido, método de estabilização, e o período de retorno do paciente para reavaliação. Nas avaliações radiográficas todas as artrodeses estavam unidas aos 60 dias. O autor concluiu que a hidroxiapatita teve um comportamento análogo ao enxerto de osso autógeno em artrodeses, se comparado a literatura, e que deve ser indicada para a utilização em artrodeses.

Moreira et al. (2003), utilizaram ratos *Wistar* para a avaliação da integração óssea dos grânulos de hidroxiapatita (HAp) de diferentes tamanhos (212  $\mu$ m, 500  $\mu$ m e 1000  $\mu$ m). Os animais foram divididos em três grupos experimentais (dois grupos com 15 animais e um grupo com 25 animais) e foram sacrificados com, 90 e 180 dias após a implantação da hidroxiapatita, que foi utilizada para o preenchimento de falha óssea produzida no fêmur. Dez animais formaram o grupo controle, cuja falha produzida no fêmur não foi preenchida com a HAp. Os animais foram avaliados por meio de estudo radiológico e histológico, utilizando-se microscopia de luz para a avaliação da interface entre o tecido ósseo e a hidroxiapatita. Foi observado que os grânulos de hidroxiapatita utilizados para o preenchimento da falha óssea foram biocompatíveis e que a restauração da falha óssea ocorreu mais rapidamente

nas falhas ósseas preenchidas com a HAp que apresentava grânulos de menor diâmetro (212 nm).

Menezes et al. (2004), realizaram um estudo investigativo sobre a resposta pulpar de dentes de cães após pulpotomia e proteção pulpar direta com MTA Angelus® e cimento *Portland* branco 38 remanescentes pulpares foram utilizados para o estudo, e após 120 dias do tratamento, os animais foram sacrificados, os espécimes removidos e feito a análise histológica. Ambos os cimentos *Portland* e MTA Angelus® demonstraram os mesmos resultados quando utilizados como materiais de capeamento pulpar, induzindo a formação de ponte de tecido mineralizado e mantendo a vitalidade pulpar em todos os espécimes. Ambos os materiais se mostraram efetivos como protetores pulpares após pulpotomia em dentes de cães.

E'gues (2005), preparou e caracterizou um compósito de colágeno com silicato e hidroxiapatita a ser possivelmente utilizado para capeamento pulpar direto e em pulpotomia como material endodôntico em prevenção ao tratamento radical de canais radiculares que em virtude de suas anatomias dificultam a utilização de biomateriais no interior dos mesmos. Embora materiais para este fim estejam disponíveis no mercado, na maioria dos casos não são isentos de agressão na zona do reparo. Neste trabalho foi utilizado o colágeno tipo I na forma aniônica que foi misturado com o silicato (cimento *Portland* branco) e hidroxiapatita em proporções variadas. Os compósitos foram caracterizados por DSC, TG, MEV, EDX e FTIR. Os resultados mostraram que a estrutura da matriz colagênica nos compósitos estudados não foi alterada, uma característica importante para a utilização dos materiais propostos na endodontia objetivando uma reparação dos tecidos de uma forma mais natural. Assim o autor sugeriu a utilização do compósito colágeno/silicato/hidroxiapatita na reparação tecidual da polpa dentária mantendo a normalidade fisiológica dos tecidos remanescentes para a formação da nova matriz dentinária, necessitando ainda de um estudo complementar com relação à biocompatibilidade e biofuncionalidade "in vivo".

Duarte et al. (2006), avaliaram a hidroxiapatita sintética como substituto ósseo na regeneração do processo alveolar, utilizando-se 28 cães adultos hígidos, pesando entre 10 e 15 kg, divididos em dois grupos. Foram criados defeitos de aproximadamente 6 x 5 mm na superfície vestibular do processo

alveolar até atingir a raiz do quarto dente pré-molar mandibular direito. Em um grupo, o defeito foi totalmente preenchido com hidroxiapatita sintética; o outro, sem tratamento, foi usado como controle. Aos 8, 15, 21, 42, 60, 90 e 120 dias, foram coletados fragmentos ósseos para a análise histológica sob microscopia óptica. Observaram crescimento ósseo e vascular no interior dos poros de hidroxiapatita, intensa proliferação de osteoblastos e neovascularização na presença do implante. A biocompatibilidade da hidroxiapatita permitiu a sua integração com o processo alveolar por meio da formação direta de um osso lamelar. Ocorreu neoformação óssea à medida que a hidroxiapatita foi degradada.

Segundo Frederico et al. (2006), o MTA ANGELUS é um material nacional para uso na clínica endodôntica que apresenta custo inferior ao outro cimento MTA disponível no mercado. Em seu trabalho investigativo os autores avaliaram a citotoxicidade dessa formulação de MTA em cultura de células odontoblastóides MDPC-23. Os corpos-de-prova foram imersos em meio de cultura (DMEM) puro após 1 hora (cura incompleta) ou 4 horas (cura completa) de sua manipulação, onde permaneceram pelos períodos de 24 horas ou 7 dias. O pH dos extratos e o do DMEM puro foram determinados, mostrando baixa variação entre os grupos de 8,4 até 8,9. O efeito citotóxico foi avaliado por meio da análise colorimétrica do Metiltetrazolium (teste do MTT), e os resultados obtidos não mostraram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos experimentais e entre estes e os grupos controles, já que a redução do metabolismo para os grupos foi de 0,82; 9,6; 4,4 e 0%. A análise da morfologia celular mostrou não haver diferenças entre os grupos experimentais e controles. Baseado nos resultados obtidos foi possível concluir que o tempo de presa e o de armazenagem do cimento MTA-Branco em líquido não interferem negativamente no metabolismo celular, caracterizando o insignificante efeito citotóxico do material.

Oliveira et al. (2007b), realizaram um estudo comparativo entre os cimentos *Portland* e o agregado trióxido mineral (MTA) devido a sua similaridade química, e a possibilidade de uso na Odontologia como uma alternativa menos onerosa ao MTA. Os autores realizaram uma análise comparativa dos componentes do cimento *Portland* (Votoran<sup>®</sup>) com os constituintes de dois cimentos MTA (*ProRoot*<sup>™</sup>-MTA e *Angelus*<sup>®</sup>-MTA). Para

tanto, foram confeccionados 12 corpos-de-prova de cada um dos materiais (n=36), e estes foram analisados em microscopia eletrônica de varredura (MEV) pela técnica de espectroscopia por dispersão de energia (EDS). Segundo os autores, o bismuto estava presente somente nos cimentos MTA, porém todos os cimentos testados apresentaram similaridade em seus constituintes, o que indicou a possibilidade de futura utilização clínica do cimento Portland como alternativa ao MTA.

Araújo et al. (2007), realizaram um estudo com o objetivo de avaliar histologicamente os efeitos da colocação da BMP (proteína morfogenética) associada à hidroxiapatita em dentina de dentes de ratos. Para a realização deste trabalho foram utilizados 20 dentes de ratos machos tipo Wistar com peso entre 300 e 350 gramas. O piloto foi constituído de quatro destes dentes para padronização da profundidade do preparo. O Grupo 1 – controle – quatro dentes foram extraídos para observação do aspecto histológico da dentina hígida. No Grupo 2, quatro dentes receberam preparo da BMP+ com hidroxiapatita e colágeno seguido de selamento com CIV (Vitrebond-3M) e após 48 horas, foram extraídos. No Grupo 3, quatro dentes receberam preparo e tratamento iguais aos realizados no Grupo 2 e após cinco dias foi realizada a extração. No Grupo 4, quatro dentes receberam o mesmo preparo e tratamento do Grupo 2 e foram extraídos após 20 dias. Após as extrações, os dentes dos Grupos 2, 3 e 4 foram analisados histologicamente. Através do aspecto histológico nas lâminas os autores observaram que houve biocompatibilidade entre o material e o tecido dentinário, não houve alteração degenerativa nos túbulos dentinários envolvidos no processo de preparo em contato com o material utilizado. Em alguns casos, foi possível observar aspectos semelhantes à calcificação distrófica sugestiva de um processo de proteção frente à agressão do material. Os autores concluíram que a BMP associada à hidroxiapatita é um material biocompatível, podendo ser utilizado em dentina.

Dórea Neto et al. (2007), realizaram um estudo sobre a utilização de hidroxiapatita para artrodeses em cães e gatos. Para isto foram feitas 25 artrodeses em 21 casos, quatro em gatos e 17 em cães, utilizando hidroxiapatita sintética como substituto ao enxerto ósseo autógeno esponjoso fresco, sendo 8 na articulação do carpo, 10 na articulação do tarso, 6 na articulação do cotovelo e 1 na articulação do joelho. As avaliações

radiográficas foram realizadas aos 30 dias em um animal, aos 45 dias em outro e aos 60 dias nos 19 casos restantes. Os autores concluíram que a união óssea em 24 artrodeses e a não-união em 1 cotovelo foi atribuída a falha na estabilização. O retorno à função do membro foi classificado de bom a excelente em 22 casos. A hidroxiapatita foi capaz de viabilizar o crescimento ósseo e mostrou-se factível para utilização na prática cirúrgica rotineira em pequenos animais.

Aragones (2007) realizou um estudo com o propósito avaliar 42 dentes molares decíduos submetidos à pulpotomia, por indicação clínica, cujo capeamento pulpar foi feito com hidroxiapatita microgranular sintetizada em laboratório. O material capeador foi usado em 21 dentes sob a forma em pó, e 21 dentes na forma de pasta, sendo esta pasta preparada no momento da intervenção, por meio da adição de uma solução antiinflamatória ao pó de hidroxiapatita. Após o período de 6 meses foram realizadas análises clínica e radiográfica. Com base nos resultados obtidos, segundo as condições experimentais em que foi realizado este trabalho, pode-se verificar que o material capeador (hidroxiapatita) pulpar na forma de pasta mostrou-se ser mais aceito pelos tecidos pulpares que o na forma de pó. A adição de uma solução antiinflamatória ao pó para formar a pasta pode ter sido responsável pela tendência de maior sucesso com o material na forma de pasta. Ainda, observou-se que a hidroxiapatita microgranular pode ser considerada uma opção como material regenerador na técnica de pulpotomia em dentes decíduos.

Barros (2008), em seu trabalho propôs avaliar, *in vitro*, a capacidade de selamento apical do MTA padrão e do MTA adicionado a diferentes substâncias e veículos em dentes apicectomizados. A amostra foi de setenta dentes humanos unirradiculares, rizogênese completa. Os espécimes foram distribuídos em 6 grupos com 10 dentes e dois com 5 dentes, sendo um controle positivo e outro negativo. A divisão dos grupos levou em consideração os materiais retrobturadores. MTA manipulado conforme o fabricante; MTA com cimento ionômero de vidro (CIV) e água destilada; MTA com CIV e líquido do CIV; MTA com 3% de solução de propilenoglicol; MTA com óleo de copaíba; MTA com óleo de copaíba e óxido de zinco. Os espécimes foram impermeabilizados (exceto a região apical e imersos em nanquim, levados a

estufa a 37°C/7 dias, e após a remoção da camada impermeabilizada foram diafanizados). Após a coleta dos dados foi estabelecido o teste de concordância Kappa entre os três avaliadores (Kappa = 0,57). O autor averigou que de todas as amostras analisadas, a amostra do MTA com veículo propilenoglicol potencializou uma boa inserção do material nas retrobturações e reduziu significativamente a infiltração apical, mostrando que este veículo pode trazer grandes benefícios quanto às propriedades físicas do MTA, como a capacidade de selamento apical.

Martinez et al. (2009), avaliaram o compósito hidroxiapatita-lignina na osseointegração entre implante metálico e o tecido ósseo, utilizando 20 coelhos adultos, nos quais foi realizada uma falha óssea na face lateral proximal de ambas as tíbias. Na tíbia esquerda, introduziu-se, no canal medular, um pino intramedular de Schanz revestido com o compósito em sua parte rosqueada, após o preenchimento do canal com 1000mg do compósito. A falha cortical foi preenchida com o compósito. O mesmo foi feito na tíbia direita, porém sem a utilização do compósito, servindo como controle. A avaliação clínica baseou-se na deiscência, claudicação, sensibilidade dolorosa e circunferência tibial. Foram realizadas radiografias imediatamente após a cirurgia e aos oito, 30, 60, 90 e 120 dias do pós-operatório. A maioria dos animais apresentou evolução clínica normal. Nas radiografias do grupo tratado, houve decréscimo da radiopacidade no defeito e no espaço medular até tornar-se semelhante à do osso circunvizinho, quadro inverso ao do grupo-controle. Segundo os autores, o compósito hidroxiapatita-lignina não mostrou indícios clínicos de rejeição e que o tecido visualizado na altura da falha óssea e ao redor do pino intramedular tinha radiopacidade semelhante à do osso circunvizinho, o que sugere que o material promoveu a integração com o tecido ósseo.

Estima et al. (2009), afirmaram que a pulpotomia tem como princípio básico a remoção total da polpa coronária, permitindo que o ciclo biológico do dente decíduo prossiga naturalmente. A amostra foi formada por 20 pacientes, de ambos os sexos, com idades entre 5 e 8 anos, que necessitavam de terapia pulpar em dentes decíduos posteriores, atingidos por lesão cariada. Neste estudo a realização de pulpotomias de dentes decíduos utilizando-se o MTA sobre o remanescente pulpar comprovou, através dos controles radiográficos, nas observações de 90 e 180 dias, que todos os dentes tratados apresentaram

selamento marginal da câmara pulpar, não sendo observadas lesões de furca nem reabsorções externa e interna e ainda integridade das estruturas de suporte periodontal. Verificou-se ainda um índice de êxito de 100% nos molares tratados com MTA, comprovando que o mesmo é um material eficaz para o selamento marginal da câmara pulpar.

Segundo Delfino et al. (2010), as várias cerâmicas de fosfatos de cálcio têm sido testadas como agentes de capeamento. Entre elas o  $\beta$ -fosfato tricálcico ( $\beta$ -TCP) e a hidroxiapatita (HAp). Os resultados relatados sugerem que a HAp e o TCP não prejudicam a polpa dental, sendo efetivas clínico-patologicamente na proteção da polpa dental humana exposta e podendo ser usadas com sucesso como material básico na terapia endodôntica. Estas cerâmicas podem ser utilizadas na forma particulada, e ao serem misturadas com solução salina ou soluções levemente ácidas, podem ser convertidas em fosfato octacálcico ou hidroxiapatita carbonatada. A utilização destas cerâmicas baseia-se no fato de que a dentina é o melhor protetor da polpa, e que a utilização de materiais capeadores, cujos elementos são os mesmos constituintes da dentina possam resultar em benefício pulpar. Assim, os autores sugerem que as cerâmicas de fosfatos de cálcio, como HAp e  $\beta$ -TCP, representam uma perspectiva futura de opção mais segura na utilização como agentes para o capeamento pulpar, apresentando efeitos positivos comparativamente ao hidróxido de cálcio. Estas cerâmicas são capazes de manter a viabilidade do tecido e promover uma reparação da exposição, além da alta biocompatibilidade, diferente da ação do cimento de óxido de zinco e outros materiais disponíveis. A formação da camada superficial de apatita, na presença de fluidos pulpare, característica típica de materiais bioativos estimula a formação de dentina. Porém, ainda há necessidade de novos estudos experimentais, assim como, acompanhamento de casos clínicos com sua utilização.

Nagasse et al. (2010), realizaram um estudo e compararam o resultado radiográfico no uso de hidroxiapatita e enxerto de crista ilíaca (autólogo) no tratamento cirúrgico de hérnia discal. Para o desenvolvimento deste trabalho foi realizado um estudo retrospectivo com pacientes submetidos à artrodese cervical comparando-se dois grupos de dez pacientes: um em que foi utilizado enxerto de hidroxiapatita e outro em que foi utilizado enxerto de crista ilíaca

(autólogo). Radiografias pós-operatórias foram mensuradas e comparadas, à busca de perdas de alinhamento angular. Os resultados mostraram que os dois tipos de enxerto demonstraram manter alinhamento em taxas similares, sendo observada consolidação óssea em todos os pacientes. O estudo não mostrou fragmentação do enxerto de hidroxiapatita ou soltura do material de síntese. Desta forma, não foi observada diferença significativa entre os resultados da artrodese cervical anterior com enxerto de hidroxiapatita em relação ao enxerto autólogo de íliaco.

García (2010) assegurou que biocerâmicas associadas a polímeros para capeamento pulpar estão sendo investigadas pela capacidade de induzir a formação de tecido mineralizado e tem sido usado na ortopedia e implantodontia com resultados clínicos eficientes. Contudo, pouco se sabe sobre o efeito destes materiais sobre a polpa dental e seus componentes celulares. Assim, o estudo teve como objetivo avaliar a biocompatibilidade do compósito: biocerâmica de  $\beta$ -tricálcio fosfato/hidroxiapatita (BC) e copolímero ácido poli (lático-co-glicólico) (PLGA) (BC/PLGA), em cultura de fibroblastos da polpa dental humana (FP5) e de macrófagos peritoneais (MP), e avaliar a resposta pulpar após capeamento direto após 30 e 60 dias. A citotoxicidade foi avaliada nos seguintes grupos: controle (células), compósito (BC/PLGA), BC e PLGA nos tempos de 0, 24 e 48h nos fibroblastos e 48h nos macrófagos. Ainda avaliou-se a aderência celular de fibroblastos gengivais humanos (FMM1) e MP sobre a superfície de discos de BC/PLGA. O resultado da citotoxicidade em FP5 foi analisado e confirmou que houve crescimento celular progressivo dos FP5 em todos os grupos experimentais, semelhantes ao controle. O grupo compósito apresentou diminuição da proliferação celular após 48 h em relação ao controle. Nos macrófagos não foi observado citotoxicidade em nenhum grupo. Para a avaliação da resposta pulpar e formação de ponte dentinária após capeamento direto foram estabelecidos os seguintes grupos: BC/PLGA, BC, PLGA, hidróxido de cálcio e controle negativo após 30 e 60 dias. Observou-se ainda que o compósito BC/PLGA teve excelente desempenho no capeamento pulpar direto após 30 dias no modelo experimental utilizado, contudo, após 60 dias houve diminuição na porcentagem da presença de ponte dentinária, por tanto, sugerindo a necessidade de testá-lo em outros modelos experimentais, “*in vivo*”.



Mota et al. (2010) afirmaram que o material obturador ideal deve apresentar características específicas, como biocompatibilidade, selamento marginal adequado, capacidade de permitir ou induzir o reparo ósseo e facilidade de manipulação e inserção. Os autores realizaram uma revisão da literatura acerca do agregado trióxido mineral, comparando-o com os principais cimentos endodônticos e materiais obturadores retrógrados disponíveis no mercado para a retrobturação do sistema de canais radiculares, analisando suas propriedades e características biológicas. Ao final do levantamento bibliográfico concluiu-se que o MTA é um material obturador retrógrado bastante satisfatório do ponto de vista químico-físico-biológico, especialmente por sua biocompatibilidade.

Gandolfi et al. (2010) observaram o efeito do fosfato, em solução bioativa de cimento de silicato de cálcio com relação a composição química, morfologia e topografia da superfície. Através de experimentos *in vitro* foi investigada a proliferação celular. No cimento de silicato de cálcio (WTC) preparado, em laboratório, foi adicionado TCP para obter o WTCTCP. O óxido de bismuto foi inserido no WTC para dar radiopacidade a amostra (WTCBi). Um MTA comercial foi investigado como amostra controle. Os discos de cimentos estudados foram colocados em solução DPBS por um período de 5 horas, 14 dias e 28 dias. O  $\alpha$ -TCP no período de 28 dias apresentou proliferação celular. Todos os experimentos não apresentaram toxicidade. Os autores mostraram que os cimentos apresentaram propriedades biológicas adequadas para ser utilizados como cimento reparador.

Gomes-Filho et al. (2010) observou que estudos *in vivo* tem mostrado que o MTA induz a formação de tecido mineralizado. O objetivo foi avaliar o implante dos tubos de polietileno preenchidos com MTA e fotopolimerizado e MTA sem ser polimerizado, em suporte alveolar de rato. Cinquenta e sete ratos entre 4 e 6 meses pesando 250-280 g foram utilizados na pesquisa.. Após a extração e hemostasia, os implantes foram inseridos na profundidade do alvéolo. Após 30, 60 e 90 dias, os animais foram eutanasiados, feito a hemiresecção da maxilar direita e analisados em microscopia de luz. Foi observado que MTA na presença da luz fotopolimerizada apresentou uma resposta semelhante em comparação com MTA sem polimerização, verificada pela redução da resposta inflamatória crônica e organização do osso alveolar

perto do material implantado, especialmente os observados no período de 90 dias. Concluiu-se que ambos os materiais foram bem aceitos pelo tecido alveolar de ratos, com a formação de tecido conjuntivo mineralizado próximo ao implante.

Hwang et al. (2010) desenvolveram um cimento de *Portland* com matéria-prima pura e as condições foram controladas em laboratório. O objetivo do estudo foi comparar a composição química, propriedades físicas e biocompatibilidade do cimento de *Portland* obtido em laboratório com o MTA e o cimento de *Portland* comercial. A composição dos cimentos foi determinada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e fluorescência de raios-X (FRX). O tempo de presa e de resistência a compressão foram testados. A biocompatibilidade foi avaliada por MEV e citotoxicidade. O MEV e o FRX revelaram que o cimento de *Portland* obtido em laboratório possui uma composição semelhante ao cimento de *Portland* comercial. O tempo de presa do cimento de *Portland* experimental e a resistência a compressão foi menor que o cimento de *Portland* comercial e o MTA. O cimento de *Portland* experimental mostrou uma biocompatibilidade semelhante ao MTA, indicando assim, como um possível substituto do MTA na aplicação clínica.

Amer et al. (2011) realizaram um estudo experimental com MTA na proporção 3:1. No grupo 1 o MTA foi misturado com água destilada; no grupo 2 o MTA foi misturado com 5% de  $\text{CaCl}_2$ ; no grupo 3 o MTA foi misturado com KY e no grupo 4 utilizou-se o MTA misturado com o 3% do gel NaOCl. Para a realização do estudo foram utilizados 56 dentes uniradiculares, onde as coroas foram seccionadas na junção amelocementária e as raízes apicetomizadas a 3mm com angulação de 90°. Os remanescentes dentinários foram divididos longitudinalmente em duas metades. Estas por sua vez foram seccionadas em três discos de dentina e no seu interior foram confeccionadas cavidades que foram preenchidas com uma solução composta de soro fisiológico, antibiótico e antimicóticos por 48 horas.

Posteriormente Amer et al. (2011) preencheram as cavidades com os grupos em estudo. Os espécimes de dentina foram armazenados em culturas de células (MC3T3) por 24 e 96 horas e revelou por meio de microscopia uma distribuição uniforme de osteoblastos e fibroblastos na junção cimento dentinário dos 4 grupos em estudo. O tempo de presa foi testado através da

agulha de Gillmore no intervalo de 5 segundos desde o início da sua espátulação até o momento em que a agulha não marque mais o material. Dentre os 4 grupos o que apresentou menor tempo de presa foi o MTA manipulado com o KY. Vários estudos relatam que as propriedades de manipulação do MTA ainda não proporcionam condições adequadas durante os procedimentos clínicos.

Heward e Sedgley (2011) fizeram um estudo comparativo *in vitro* intracanal do efeito do MTA e hidróxido de cálcio como medicação intracanal nos casos de reabsorção radicular levando em consideração a difusão de íons hidroxilas na dentina, observando a mudança de pH no intervalo de quatro semanas. Em cada dente o pH foi medido após 3 horas, 24 horas, uma semana, duas semanas, três semanas e quatro semanas. Foram preparadas cavidades de 5 mm a partir do ápice na superfície radicular. As amostras foram constituídas de dentes humanos uniradiculares e extraídos. A difusão de íons de hidroxilas é reduzida pela capacidade de tamponamento da dentina. Os autores reportaram que na cavidade da superfície radicular o MTA possui pH significativamente mais elevado que o hidróxido de cálcio. Sendo necessário novos estudos para verificar a interferência de variação de pH nos procedimentos clínicos.

Castro-Raucci et al. (2011), avaliaram a progressão de cultura de células osteogênicas expostas a um novo cimento de aluminato de cálcio ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) em comparação ao agregado de trióxido mineral (MTA). As células foram obtidas por digestão enzimática de calvária de ratos recém-nascidos, plaqueadas sobre lamínulas de vidro contendo em sua área central discos de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ou MTA e crescidas em condições osteogênicas por até 10 dias. Durante a cultura primária, observou-se o arredondamento das bordas das amostras de cimento apenas para MTA. Embora ambos os cimentos tenham permitido a adesão, o espalhamento e a proliferação celulares, as culturas crescidas em contato com  $\text{Al}_2\text{O}_3$  exibiram valores maiores de número total de células em 3 e 7 dias, e de conteúdo de proteína total e atividade de fosfatase alcalina em 10 dias. Os resultados indicam que a exposição ao  $\text{Al}_2\text{O}_3$  permitiu o desenvolvimento de uma proporção maior de células em estágios mais avançados da diferenciação osteoblástica, quando comparado ao MTA. Os autores indicaram a utilização do  $\text{Al}_2\text{O}_3$  como um material alternativo ao MTA,

especialmente quando um dos objetivos do tratamento endodôntico é o de reparação dos tecidos mineralizados da região periapical.

Salles et al. (2012) realizaram um estudo de avaliação da biocompatibilidade e bioatividade de um novo cimento endodôntico à base de mineral trióxido agregado (MTA), o MTA Fillapex (MTA-F; Angelus, Londrina, Brasil), utilizando-se culturas de células humanas. Os osteoblastos humanos (células Saos-2) foram cultivadas sobre a superfície de três cimentos endodônticos: o MTA-F, o Epiphany SE (EP-SE; SybronEndo, Orange, CA) e o selante de óxido de zinco e eugenol (OZE), sendo cultivadas durante 1, 2, 3, e 7 dias. Os osteoblastos humanos cultivados em placas de petri e foram denominadas como grupo controle (CT) e foram cultivadas durante 21 dias. O crescimento das células foi avaliado por ensaios de MTT e a morfologia por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A bioatividade dos cimentos foi avaliada pela atividade da fosfatase alcalina (ALP) e a detecção dos depósitos de fosfato de cálcio no meio de cultura foi observada com o corante vermelho de alizarina (ARS). A espectroscopia por energia dispersiva de raios-X (EDS) foi usada para determinar a composição química dos cristalitos de fosfato de cálcio depositados sobre as culturas. A análise estatística foi realizada pela análise de variância e teste de Bonferroni ( $P < 0,01$ ). O MTA-F com culturas de 1, 2 e 3 dias apresentou citotoxicidade aumentada. Em contrapartida, o crescimento das células Saos-2 aumentou após 7 dias de exposição ao MTA-F. As culturas de osteoblastos sobre as superfícies de EP-SE e ZOE não apresentaram viabilidade de crescimento, assim estes cimentos apresentaram-se citotóxicos em todos os períodos. No sétimo dia de cultura, a atividade da ALP aumentou-se significante no grupo de MTA-F. As análises de MEV e EDS mostraram a presença apenas de cristais de fosfato de cálcio (hidroxiapatita – HAp) no MTA-F e no grupo CT. No grupo MTA-F, composição química e morfologia cristalitos de HAp mostraram-se diferentes dos do grupo CT. Após o ajuste da citotoxicidade do MTA-F, após 7 dias, o cimento apresentou bioatividade adequada para estimular a nucleação de cristais de HAP.

### 3 METODOLOGIA

Este é um estudo *in vivo* do tipo laboratorial, experimental, comparativo, qualitativo e quantitativo. Realizado nos Laboratórios de: Caracterização de Materiais da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais da UFCG, Laboratório Histopatologia do Departamento de Odontologia da UEPB e no biotério da Faculdade de Medicina da UFCG. Aprovado pelo comitê de ética sob o número do projeto: 007140911 em 14/11/11 pela Comissão de Ética no uso de Animais - CEUS/CESED do Centro de Ensino Superior de Desenvolvimento Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande.

Para melhor entendimento da metodologia proposta nesta pesquisa, a mesma foi dividida em duas etapas. A etapa I corresponde a obtenção da hidroxiapatita e dos cimentos com adição de 1, 3 e 5% em massa de HAp ao MTA e posterior caracterização do MTA puro, da HAp e dos cimentos obtidos. A etapa II corresponde ao estudo *in vivo* dos cimentos endodônticos obtidos.

#### 3.1 Materiais

Para a realização desta pesquisa foram utilizados os seguintes materiais e reagentes:

- Agregado trióxido mineral (MTA ANGELUS<sup>®</sup>), de composição química: óxido de silício ( $\text{SiO}_2$ ), óxido de potássio ( $\text{K}_2\text{O}$ ), óxido de alumínio ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), óxido de sódio ( $\text{Na}_2\text{O}$ ), óxido de ferro ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), óxido de enxofre ( $\text{SO}_3$ ), óxido de cálcio ( $\text{CaO}$ ), óxido de bismuto ( $\text{Bi}_2\text{O}_3$ ), óxido de magnésio ( $\text{MgO}$ ), resíduos insolúveis de sílica cristalina, óxido de cálcio e sulfato de potássio e sódio (conforme descrição do fabricante contida no ANEXO A).
- Água destilada ( $\text{H}_2\text{O}$  ANGELUS<sup>®</sup>).
- Hidróxido de cálcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ), 95% PA (VETEC).
- Ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), 85% PA (VETEC).
- Hidroxiapatita sintetizada no laboratório de Síntese de Materiais Cerâmicos (LabSMac) por precipitação e tratada termicamente a  $1300^\circ\text{C}$  ( $(\text{Ca})_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ).
- Xilol I e II.

- Álcool etílico absoluto, 60, 70, 80 e 90%.
- Hematoxilina.
- Eosina.
- Resina *Permout*<sup>®</sup>.

### 3.2 Métodos

#### 3.2.1 Etapa I – Obtenção da Hidroxiapatita (HAp) dos Cimentos Endodônticos e Caracterização

##### 3.2.1.1 Obtenção da Hidroxiapatita (HAp)

A Figura 14 apresenta um fluxograma esquemático da etapa de obtenção da hidroxiapatita.

Figura 14: Fluxograma da obtenção da hidroxiapatita.



Fonte: Própria, 2012.

A hidroxiapatita foi obtida pelo método úmido de precipitação (SAERI et al., 2003) envolvendo uma reação ácido-base denominada neutralização entre as soluções de ácido fosfórico e hidróxido de cálcio com concentrações 1M. A solução ácida foi adicionada com controle de vazão à solução alcalina,

previamente aquecida à temperatura de  $\pm 80^{\circ}\text{C}$ , sob constante agitação magnética.

Após a completa adição da solução de ácido fosfórico, o produto obtido permaneceu por um período de  $\pm 50$  minutos, sob agitação à temperatura de  $100^{\circ}\text{C}$ , para atingir a viscosidade desejada. Após a obtenção da pasta viscosa do fosfato de cálcio, está foi levada para a estufa FANEM modelo 315 a  $110^{\circ}\text{C}/24$  horas.

Em seguida, o material seco, foi macerado no almofariz tipo ágata, passado em peneira de malha 200 mesh ( $74\ \mu\text{m}$ ) e tratada termicamente a uma temperatura de  $1300^{\circ}\text{C}$  em forno convencional marca EDG modelo 3000.

### 3.2.1.2 Preparação dos Cimentos Endodônticos MTA/HAp

Os cimentos endodônticos foram obtidos usando percentual de 1, 3 e 5% em massa de HAp no total do cimento endodôntico MTA manipulando com  $\text{H}_2\text{O}$  destilada, de acordo com a indicação do fabricante. Os cimentos obtidos foram designados conforme descrito na Tabela 3.

Tabela 3: Nomenclatura adotada para designar os cimentos endodônticos.

<b>Nomenclatura</b>	<b>Cimento</b>
C1	Agregado trióxido mineral (MTA)
C2	Hidroxiapatita (HAp)
C3	Cimento composto, em massa de: 0,28g (100%) de MTA e (0,0028g) 1% de HAp
C4	Cimento composto, em massa de: 0,28g (100%) de MTA e (0,0084g) 3% de HAp
C5	Cimento composto, em massa de: 0,28g (100%) de MTA e (0,0140g) 5% de HAp

Fonte: Própria, 2012.

Para obtenção dos cimentos endodônticos proposto neste estudo, inicialmente pesou-se o cimento MTA em uma balança analítica, transferindo-o para um cadinho de porcelana. A HAp já sintetizada e tratada termicamente foi também pesada em balança analítica e em seguida adicionada ao MTA, seguindo-se as proporções em massa já descritas na Tabela 3. O MTA e a HAp foram misturados manualmente com auxílio de uma espátula metálica.

Após a mistura, os cimentos C3, C4 e C5 foram calcinados a 500°C por 2 horas para manter uma melhor estabilidade dos cimentos.

### *3.2.1.3 Caracterização*

Os ensaios de caracterização dos materiais desenvolvidos neste trabalho (DRX, EDX, FTIR e MEV) foram todos realizados no Laboratório de Caracterização de Materiais da UFCG. Já os ensaios radiográficos dos elementos dentários e dos fêmures dos ratos foram realizados no Setor de Radiologia da Clínica de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

#### 3.2.1.3.1 Difração de Raios X (DRX)

As análises de difração de raios X foram conduzidas a temperatura ambiente em um equipamento Shimadzu (XRD-6000) a 40 kV e 30 mA, radiação  $\text{CuK}\alpha = 1,54 \text{ \AA}$ , no intervalo de varredura de  $2\theta$ , entre 5 a 70 graus, a uma taxa de  $2^\circ/\text{min}$ . A identificação das fases dos materiais estudados foram realizadas a partir das fichas catalográficas contidas no banco de dados JCPDS do Programa XDR Data da Shimadzu (XRD-6000).

#### 3.2.1.3.2 Fluorescência de Raios X (EDX)

O espectrômetro de fluorescência de raios X é um instrumento que determina semi-quantitativamente os elementos presentes em uma determinada amostra. Os espectros de fluorescência e a análise semi-quantitativa foram determinados em um equipamento, modelo EDX-720.

#### 3.2.1.3.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As análises no infravermelho foram realizadas em um espectrômetro Spectrum 400 Perkin Elmer FT-IR/FT-NIR Spectrometer com varredura de 4000 a  $450 \text{ cm}^{-1}$ .



#### 3.2.1.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As análises da morfologia das amostras foram realizadas por microscopia eletrônica de varredura. As amostras foram dispersas em acetona e desaglomeradas em ultra-som. Uma gota da suspensão bem diluída foi depositada sobre o porta-amostra, o qual foi recoberto com ouro para realização da análise. Para a análise foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura (MEV), marca Philips, modelo XL-30 – ESEM.

#### 3.2.1.3.5 Aspecto Radiográfico (RX)

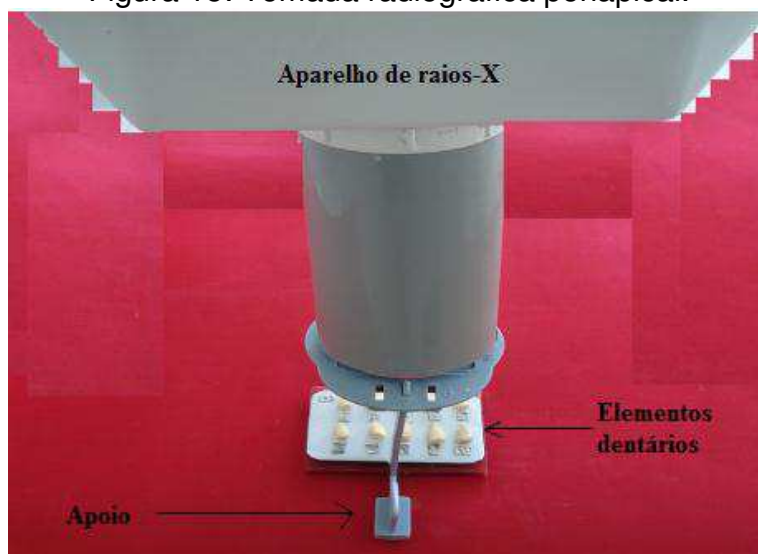
A radiopacidade é uma característica importante nos materiais odontológicos restauradores. A avaliação de subcontornos, sobrecontornos, porosidades e principalmente a clara distinção entre o material restaurador e a estrutura dental anatômica, bem como processos patológicos são de extrema importância na endodontia. A ausência ou pouca radiopacidade de um material restaurador poderia induzir a um diagnóstico radiográfico incorreto.

O aspecto radiográfico dos cimentos estudados foi determinado tanto em cavidades de amostras de elementos dentários (*in vitro*), quanto em cavidades de fêmures de ratos Wistar (*in vivo*).

No ensaio *in vitro*, as análises dos cimentos foram realizadas por tomadas radiográficas periapical (Figura 15). O equipamento utilizado foi um aparelho de raios X modelo Spectrum-70X Eletronic da marca DABI ATLANT, com angulação de 0°.

Com o auxílio da técnica de raios X pretendeu-se observar o grau de radiopacidade dos cimentos obtidos quando colocados no elemento dentário. O ensaio radiográfico *in vivo* será detalhado na Etapa II, que trata de todos os ensaios *in vivo* que foram realizados.

Figura 15: Tomada radiográfica periapical.



Fonte: Própria, 2012.

#### 3.2.1.3.6 Tempo de Endurecimento

O kit de MTA do fabricante Angelus é constituído por: 02 sachês (pacotes) cada um com 0,14 g e 3 ml de água destilada. A manipulação conforme o fabricante é de um sachê com 0,14 g para 1 gota de água destilada que pesa aproximadamente 0,0466 g.

Durante a realização do ensaio de tempo de endurecimento o MTA foi manipulado de acordo com o recomendado pelo fabricante: 0,28 g de MTA para 2 gotas de água (0,0932 g). Com relação à hidroxiapatita, esta também foi manipulada na proporção de 0,28 g de hidroxiapatita e 2 gotas de água destilada (equivalente a 0,0932 g).

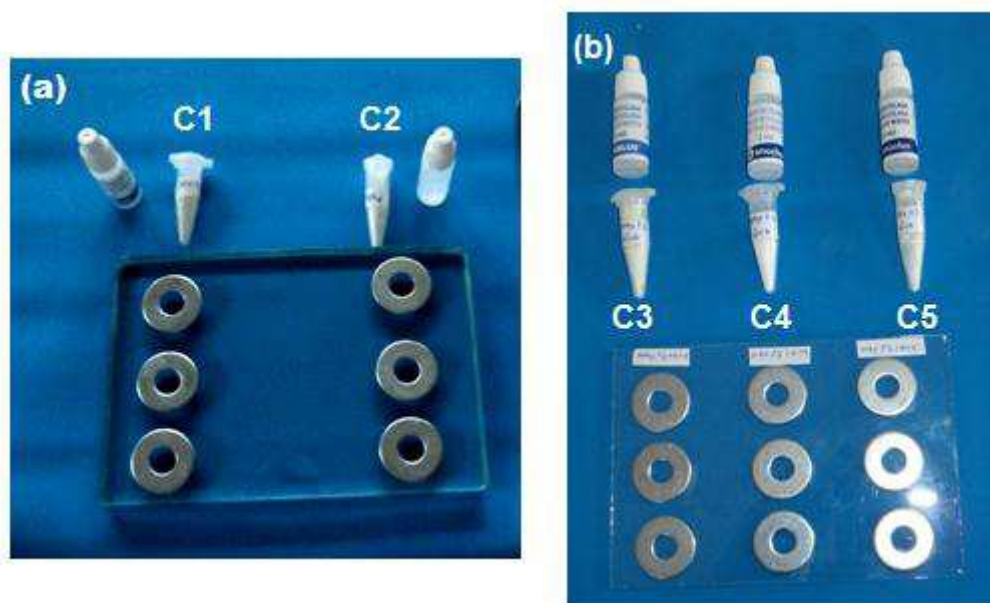
Para os cimentos MTA/HAp com percentual de 1, 3 e 5% de hidroxiapatita, os materiais foram incorporados manualmente misturando-se a HAp ao MTA. O percentual de água foi de 3 gotas (0,1398 g), 4 gotas (0,1864 g) e 5 gotas (0,2330 g) para os cimentos MTA/HAp, com percentual de 1, 3 e 5% em massa, respectivamente.

Com relação ao tempo de endurecimento, todos os materiais estudados foram manipulados durante 30 segundos até obter uma mistura homogênea, de consistência granular, apresentando aspecto semelhante ao MTA quanto ao ressecamento do material.

Para a realização deste experimento, foram confeccionados moldes de aço inoxidável, cilíndricos, com diâmetros internos de 10 mm e espessura uniforme de 2 mm. Os moldes foram fixados em suas faces externas, com um auxílio de uma cera, sobre uma placa de vidro de 1 mm de espessura por 25 mm de largura e 75 mm de comprimento. Conforme ilustrado na Figura 16.

O conjunto foi mantido a uma temperatura constante de 37 °C dentro de uma estufa e umidade relativa do ar de 95%. Decorridos  $150 \pm 10$  segundos do início da mistura, uma agulha tipo Gillmore de 100 g e ponta ativa de 2,0 mm de diâmetro foi colocada verticalmente sobre a superfície horizontal do material. A colocação da agulha de Gillmore sobre o material foi repetida em intervalos de 60 segundos até a agulha não marcar mais o material testado.

Figura 16: Moldes de aço inoxidável, cilíndricos e placa de vidro utilizados durante o ensaio de tempo de endurecimento. (a) cimentos C1 e C2 e (b) cimentos C3, C4 e C5.



Fonte: Própria, 2012.

O tempo de endurecimento dos cimentos foi determinado pelo tempo decorrido entre o início da mistura e o momento no qual as marcas da agulha de Gillmore deixaram de ser visíveis na superfície dos cimentos testados. Este procedimento de medição foi proposto por (PÉCORA e SOUSA NETO, 2005).

### 3.2.1.3.7 Consistência

Em uma placa de vidro foi colocado aproximadamente 0,28 g do MTA para 2 gotas (0,0932 g) de água destilada, em seguida fez-se a manipulação de acordo como recomendado pelo fabricante. Para a hidroxiapatita, esta foi manipulada com 0,28 g de HAp para 2 gotas de água destilada até obter uma consistência adequada. Já para os cimentos MTA/HAp com percentual de 1, 3 e 5% de hidroxiapatita, os materiais foram incorporados manualmente misturando-se a HAp ao MTA. O percentual de água foi de 3 gotas (0,1398 g), 4 gotas (0,1864 g) e 5 gotas (0,2330 g) para os cimentos MTA/HAp com percentual de 1, 3 e 5%, respectivamente.

A consistência de todos os materiais estudados foi avaliada após os mesmos terem sido manipulados com a água destilada fornecida pelo fabricante do MTA por 30 segundos e em seguida, com um movimento ascendente da espátula, obteve-se uma massa homogênea, de consistência arenosa, semelhante ao amálgama, porém mais úmido e em formato aproximado de um cone, de onde foi medida a sua altura por meio do auxílio de um paquímetro digital.

De acordo com Borges (1998), com relação à manipulação de materiais obturadores, um cimento endodôntico ideal é aquele que, após a manipulação com água destilada, permite a formação de um fio entre a massa manipulada e a espátula, no momento da obtenção do cone. Sugere-se então, que quanto maior for a altura do cone formado pelo cimento melhor será a sua trabalhabilidade.

## 3.2.2. ETAPA II – Ensaio *In Vivo* dos Cimentos Endodônticos

### 3.2.2.1 Animais

Os animais utilizados foram ratos da linhagem Wistar (*Rattus Norvegicus*) adultos, machos, pesando aproximadamente 300 gramas, provenientes do biotério da Faculdade de Medicina da UFCG.

O estudo foi realizado em 60 ratos, divididos aleatoriamente em quatro grupos A, B, C e D, cada um com 15 animais. Foram implantados

dois tipos de materiais experimentais em cada animal, sendo materiais diferentes em cada fêmur, direito e esquerdo, para os grupos A, B e C. Os animais do grupo D não receberam nenhum de material regenerador, sendo este o grupo controle.

Os ratos foram alojados em gaiolas de plástico fosco com tampas metálicas, medindo 50 x 50 x 25 cm, mantidas em salas com temperatura ambiente aproximadamente 23°C controlada por meio de aparelho de ar condicionado e/ou ventilação natural, em ciclo de luminosidade 12h/12h claro/escuridão, alimentação balanceada (purina) e água *ad libitum* (à vontade).

### 3.2.2.2 Implantação In Vivo dos Compósitos

Os defeitos ósseos foram confeccionados, na região proximal da diáfise do fêmur direito e esquerdo dos ratos, em seguida, as cavidades cirúrgicas foram preenchidas com os cimentos MTA, HAp e MTA/HAp, exceto o grupo controle, que não recebeu material algum.

A Figura 17 ilustra a localização de onde foram implantados cada um dos cimentos que foram estudados. A Tabela 4 traz uma descrição detalhada do cronograma da realização dos implantes.

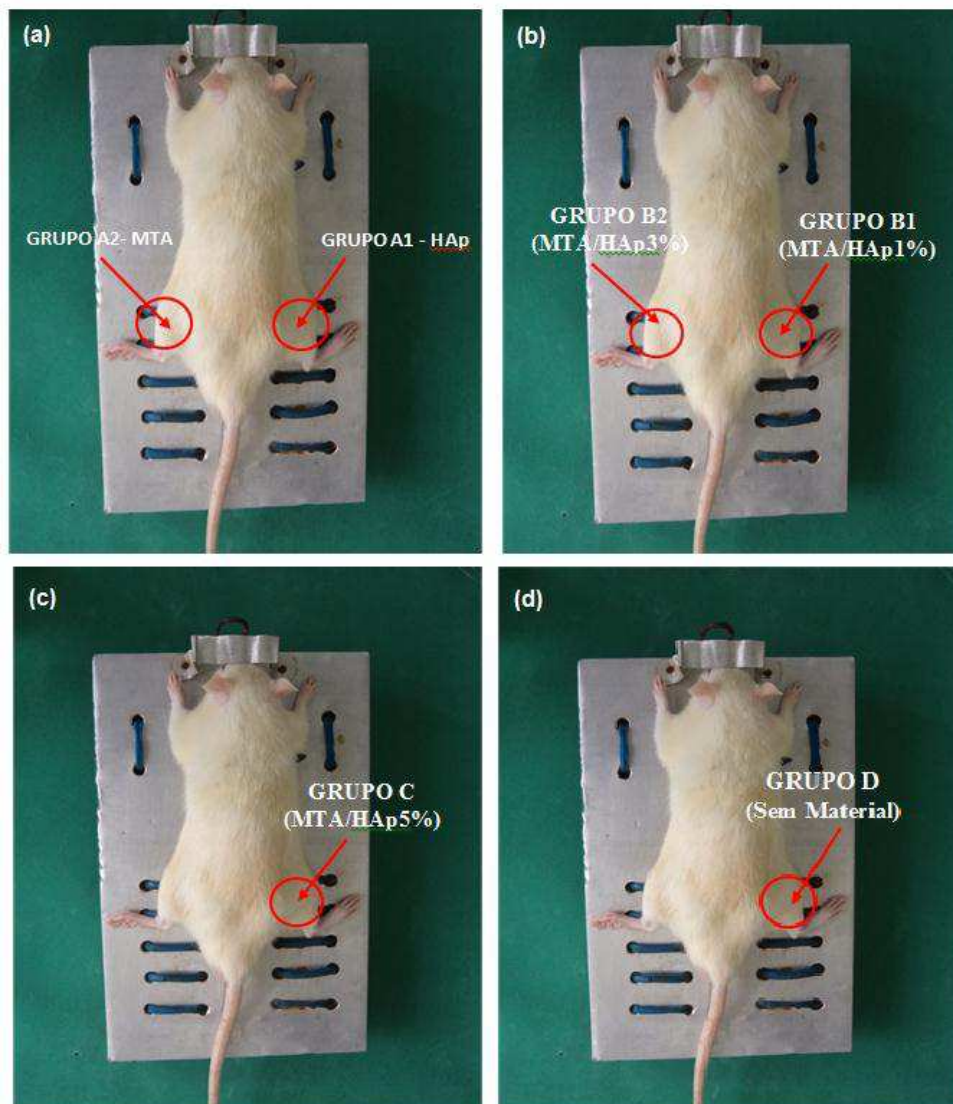
Tabela 4: Descrição detalhada do cronograma da realização dos implantes.

<b>IMPLANTAÇÃO IN VIVO DOS CIMENTOS</b>					
<b>Grupo A</b>		<b>Grupo B</b>		<b>Grupo C</b>	<b>Grupo D</b>
<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>B1</b>	<b>B2</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
Ratos Wistar		Ratos Wistar		Ratos Wistar	Ratos Wistar
Nº15		Nº15		Nº15	Nº15
Fêmur direito	Fêmur esquerdo	Fêmur direito	Fêmur esquerdo	Fêmur direito	Fêmur direito
<b>MATERIAIS EXPERIMENTAIS A SEREM IMPLANTADOS</b>					
MTA	HAp	MTA/HAp1%	MTA/HAp3%	MTA/HAp5%	Sem material
<b>PERÍODO DE EUTÂNASIA</b>					
15 dias (05 ratos)		15 dias (05 ratos)		15 dias (05 ratos)	15 dias (05 ratos)
30 dias (05 ratos)		30 dias (05 ratos)		30 dias (05 ratos)	30 dias (05 ratos)
45 dias (05 ratos)		45 dias (05 ratos)		45 dias (05 ratos)	45 dias (05 ratos)

Fonte: Própria, 2012.

- Grupo A – recebeu os materiais: hidroxiapatita (HAp) no fêmur direito, denominado grupo A1 e mineral trióxido agregado (MTA) no fêmur esquerdo, denominado grupo A2.
- Grupo B – recebeu os cimentos: MTA/HAp1% no fêmur direito, denominado grupo B1 e MTA/HAp3% no fêmur esquerdo, grupo B2.
- Grupo C – recebeu o cimento MTA/HAp5% no fêmur direito, denominado grupo C.
- Grupo D – não recebeu nenhum material para o auxílio da regeneração óssea, denominado grupo D, sendo então este o grupo controle.

Figura 17: Localização de implantação dos cimentos e distribuição dos grupos. (a) grupo A, (b) grupo B, (c) grupo C e (d) grupo D.



Fonte: Própria, 2012.

### 3.2.2.3 Preparação do Material de Implante

Os cimentos C3, C4 e C5 foram colocados em placas de petri e levados a estufa a 37 °C e umidade relativa do ar de 95% durante 24 horas. Posteriormente, os cimentos foram desaglomerados, passados em peneira de malha 200 mesh e armazenados individualmente em tubos de ensaio estéril, hermeticamente fechados e então submetidos ao processo de esterilização em Autoclave (Dabi-Atlante D 700 – 19 litros) a 121°C por 20 minutos. Este procedimento de autoclavagem foi realizado na central de esterilização do Departamento de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba.

### 3.2.2.4 Procedimento Cirúrgico

Os animais foram anestesiados com administração via intra-muscular com a solução de xilazina a 2% (20mg/ml) e cetamina a 10% (100mg/ml). Em seguida foi realizada a tricotomia da região proximal da diáfise do fêmur direito e esquerdo dos ratos, utilizando um aparelho com lâmina nº 10; a antisepsia da área operatória foi feita com álcool/iodado (95% de álcool à 70% em 5% de iodo). Após esse procedimento, foram realizadas incisões cutâneas, de 8 mm de comprimento na região proximal da diáfise do fêmur direito e esquerdo com uma lâmina de bisturi nº10, com auxílio de um periostómo de *Molt* e cinzel de *Oshsenbein* nº1 (SSWHITE), os retalhos foram elevados expondo amplamente a cortical óssea da região.

Os defeitos críticos de aproximadamente 0,5 x 0,5 mm foram confeccionados com brocas esféricas de baixa rotação nº1 da KG Sorensen, sob irrigação abundante e contínua com solução fisiológica. Os fragmentos ósseos foram removidos com curetas de pequeno diâmetro e as lojas cirúrgicas preenchidas com 15 microgramas dos cimentos. O perióstio e músculo foram suturados em zigue-zague com categut 3-0, e a pele foi unida com mononailon 3-0, empregando-se sutura simples interrompida. Num período curto (48 horas) foi feita uma avaliação da incisão e do procedimento operatório e a assepsia da ferida cirúrgica com solução fisiológica a 0,9% até a remoção dos pontos de pele.



### 3.2.2.5 Cuidados Pós Cirúrgico

Os animais foram, colocados nas gaiolas para a recuperação da anestesia, em ambiente silencioso, com pouca luz, com um mínimo de manipulação, evitando assim estresse dos animais. A temperatura local foi mantida entre 27 a 30°C, devido à hipotermia pós-operatória. Outros cuidados foram tomados, tais como: limpeza das gaiolas, proteção nos fundos das gaiolas gradeadas para evitar fraturas o controle do consumo de água e administração de analgésicos no período pós-operatórios quando necessário.

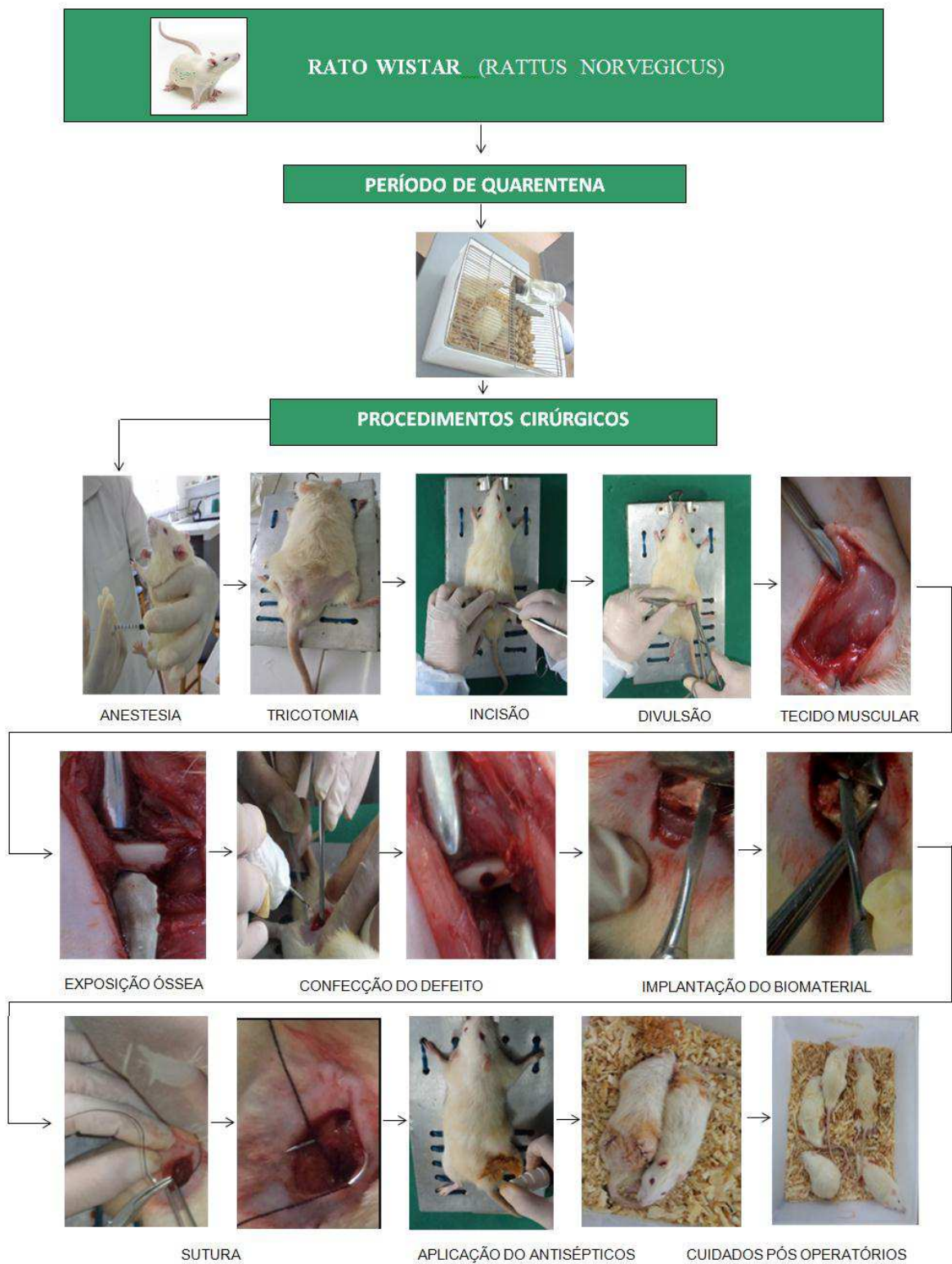
A Figura 18 ilustra o Fluxograma de todo o procedimento cirúrgico e o pós-operatório.

### 3.2.2.6 Protocolo de Eutanásia

Após os procedimentos cirúrgicos foram sacrificados 5 animais de cada grupo nos períodos de 15, 30 e 45 dias. A eutanásia foi realizada através da administração de anestésico em dose letal, conforme previsto pela Comissão de Ética no dos Animais Comitê de Ética em Uso de Animais da do Centro de Ensino Superior e Desenvolvimento – CEUA/CESED, projeto número 007140911, aprovado em 14/11/2011. Os fêmures foram removidos, fixados em solução de formalina a 10% por uma semana e submetido ao protocolo histológico para avaliação da neoformação óssea. O descarte dos ratos após eutanásia foi por incineração no setor de patologia do Hospital Veterinário da UFCG. A Figura 18 ilustra o Fluxograma do procedimento cirúrgico e pós-operatório do ensaio *in vivo*.

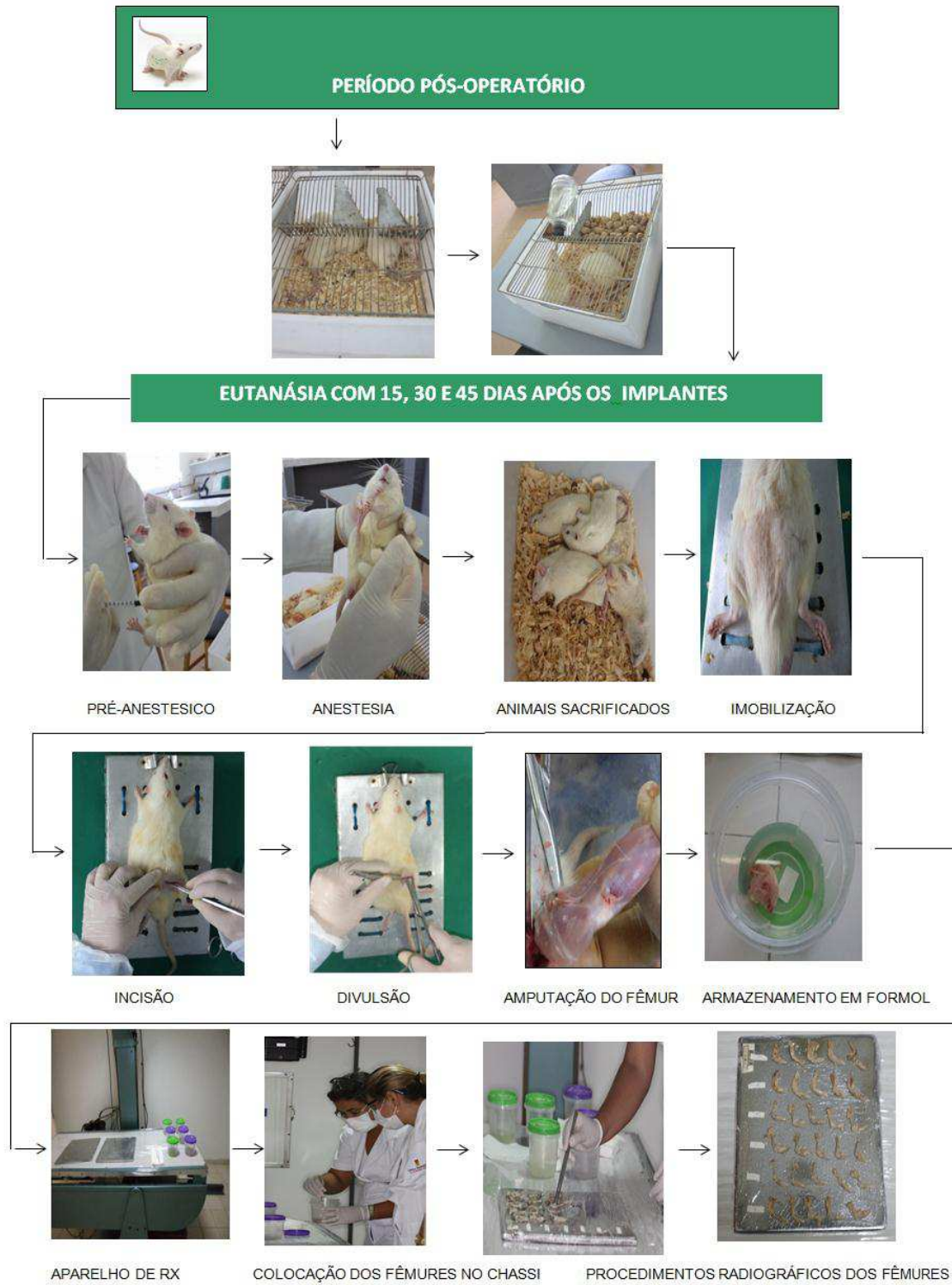


Figura 18: Fluxograma do procedimento cirúrgico e pós-operatório.



Fonte: Própria, 2012.

Figura 19: Fluxograma do procedimento de eutanásia e amputação dos fêmures para a análise radiográfica.



Fonte: Própria, 2012.

### 3.2.2.7 Caracterização

#### 3.2.2.7.1 Avaliação Radiológica in vivo

Para avaliação por imagens radiográficas *in vivo*, todos os fêmures contendo os cimentos depositados nos defeitos ósseos produzidos foram sequencialmente, radiografados na Clínica Radiológica Dr. Saturnino Nóbrega. Para tal, utilizou-se um aparelho de raios-X Chemetron Universal X-Ray Easymatic Super 325. O aparelho para emissão de raios-X perpendicularmente mantinha a distância foco-filme padronizada de 30 cm.

Foram realizadas radiografias nas posições craniocaudais (CC) e mediolateral (ML) do fêmur operado decorridos 15, 30 e 45 dias de pós-operatório, visando acompanhar o processo de reparação tecidual. As 60 radiografias resultantes foram processadas automaticamente. Posteriormente, as radiografias foram avaliadas com relação à integração, ou não, do material depositado no interior dos defeitos produzidos com o material ósseo adjacente, observando assim se ocorreu a osseointegração do mesmo com o tecido ósseo. Cada uma das 60 radiografias foi analisada separadamente e em conjunto com o seu referido grupo, onde foram avaliados os seguintes parâmetros:

- Material implantado: presente ou ausente;
- Osteocondução: neoformação óssea (0 – ausente, 1– leve, 2– moderada e 3– completa), reabsorção óssea (0 – ausente, 1 – leve, 2 – moderada e 3 – completa) e fratura óssea (0 – ausente, 1 – leve, 2 – moderada, 3 – completa).

A regeneração óssea foi caracterizada através de escores (escala de avaliação estatística): 0- ausente, 1- leve, 2- moderada, 3 - intensa, completa, 4- completa (BORGES, 1998), quando avaliou o efeito da hidroxiapatita sintética na regeneração óssea de defeito provocado experimentalmente no terço proximal na tíbia dos cães.

### 3.2.2.7.2 Avaliação Histomorfológica

Esta análise foi realizada em cortes histológicos, dispostos em lâminas de vidro e corados pela técnica da Hematoxilina e Eosina (HE), correspondentes aos espécimes selecionados para esta pesquisa. O material para o estudo foi descalcificado em ácido nítrico à 5% (10 ml), durante aproximadamente 7 dias, sendo realizadas trocas do ácido, sempre que necessário. Ao observar, com a ponta de uma agulha descartável, que o material ósseo, em análise, já estava pronto para o processamento, realizou-se banhos sucessivos para desidratação em concentrações crescentes de álcool (60% a 100%).

Na sequência, o material recebeu processamento histológico de rotina para inclusão em parafina. Procedeu-se, então, os cortes histológicos das peças em sentido longitudinal, em micrótomo (LEICA®), com espessura de 5µm, segundo o longo eixo do fêmur.

Cada caso foi avaliado sob microscopia de luz (LEICA® Microsystems Vertrieb GmbH, Wetzlar, DE) nos aumentos de 40x, 100x e 400x por um único examinador capacitado e calibrado, para descrição dos achados histomorfológicos representantes da amostra.

Foram analisadas as seguintes características histomorfológicas:

- Infiltrado Inflamatório: leve, moderado, intenso.
- Atividade osteoblástica: leve, moderado, intensa.
- Neoformação óssea: leve, moderada, intensa, completa
- Reação de corpo estranho: ausente, leve, moderada, intensa
- Área de fibrose: ausente, leve, moderada, intensa
- Reação de granulação: ausente, leve, moderada, intensa

A técnica utilizada para coloração em HE seguiu o protocolo descrito abaixo:

A primeira etapa foi o processo de desparafinização em que os fêmures foram mergulhados em solução de xilol I, por 15 minutos e em seguida, solução de xilol II, por mais 15 minutos. Daí as amostras passaram por uma hidratação em cadeia descendente de etanóis, com permanência de 5 minutos em cada tipo de álcool. A sequência foi a seguinte: álcool etílico absoluto, seguido de

álcool etílico 90%, álcool etílico 80%, álcool etílico 70% e álcool etílico 60%. Posteriormente, as amostras foram lavadas em água corrente (5 minutos), seguida de lavagem em hematoxilina (1,30 minutos), água corrente novamente (5 minutos), eosina (6 minutos), finalizando com água corrente (5 minutos).

Após a etapa de lavagem, os fêmures passaram por uma sequência de desidratação em cadeia ascendente de etanóis, a saber: álcool etílico 60, 70, 80, 90%, finalizando com o álcool etílico absoluto, com uma permanência de 5 minutos em cada álcool. Após a etapa de desidratação, seguiu-se com a etapa de diafanização, com solução de xilol I (15 minutos), seguido de solução de xilol II (15 minutos), onde finalmente, os fêmures foram organizados sobre uma placa de resina *permount*<sup>®</sup> para observação à microscopia ótica.

#### 3.2.2.7.3 Avaliação Estatística

A partir dos resultados obtidos nos ensaios *in vivo* (Avaliação Radiográfica e Histomorfológica) foi realizada uma análise estatística, em que se obtiveram os seguintes dados estatísticos: distribuições absolutas, percentuais, média, desvio padrão e mediana (técnicas de estatística descritiva), utilizando-se as técnicas de estatística inferencial através do teste Exato de Fisher. Ressalta-se que a escolha do referido teste foi devido ao grande número de animais e aos seus resultados serem qualitativos (ALTMAN, 1991; CONOVER, 1980).

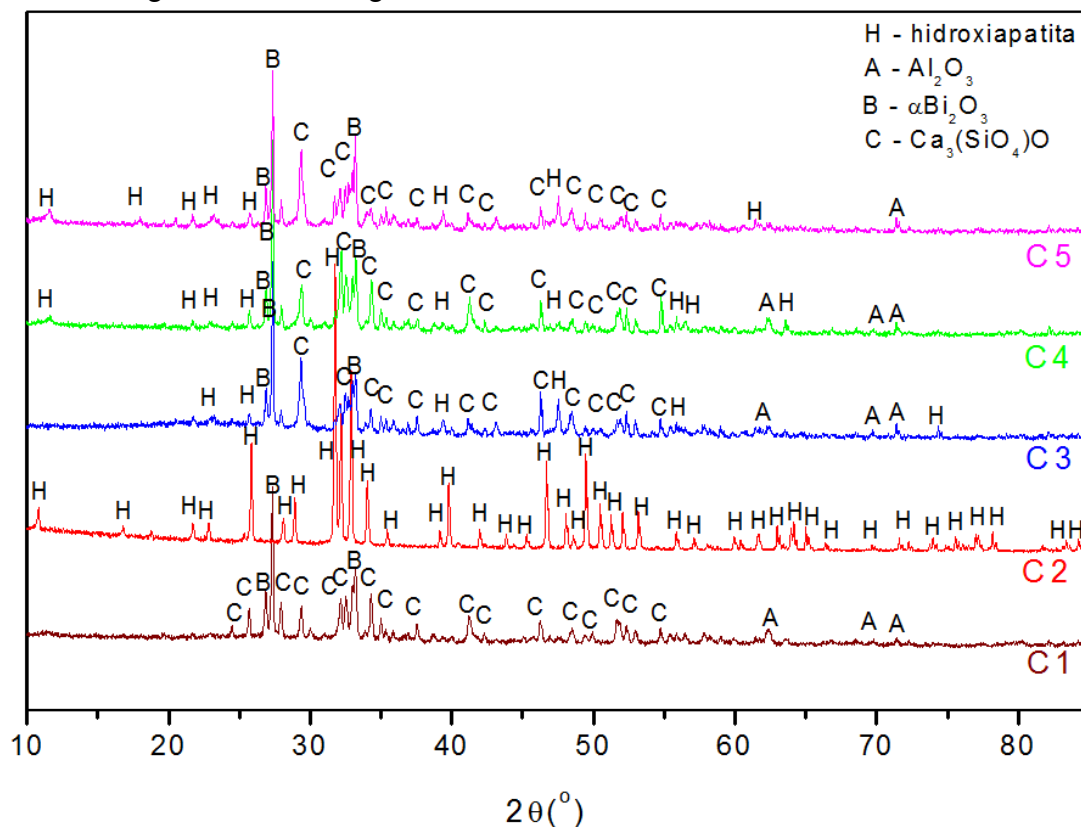
A margem de erro utilizada nas decisões dos testes estatísticos foi de 5%, sendo o percentual de credibilidade significativamente maior, uma vez que  $p < 0,05$ . O programa estatístico utilizado para digitação dos dados e obtenção dos cálculos estatísticos foi o SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) na versão 17.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Difração de Raios – X (DRX)

A Figura 20 ilustra os difratogramas de Raios – X dos cimentos MTA (C1), HAp (C2), MTA/HAp1% (C3), MTA/HAp3% (C4) e MTA/HAp5% (C5). Mediante o espectro de difração do cimento C1 (MTA) observa-se a presença das fases silicato de cálcio [ $\text{Ca}_3(\text{SiO}_4)\text{O}$ ] (ficha cristalográfica 73-2077), a fase alfa do óxido de bismuto [ $\alpha\text{-Bi}_2\text{O}_3$ ] (ficha cristalográfica 76-1730) e traços da fase do óxido de alumínio (ficha cristalográfica 1-1180). As fases identificadas estão em concordância com a composição do MTA relatada no Anexo B.

Figura 20: Difratograma de Raios-X dos cimentos estudados.



Fonte: Própria, 2012.

Para o cimento C2, que corresponde a HAp sintetizada e calcinada a  $1300^\circ\text{C}$ , observa-se apenas a formação da fase única da hidroxiapatita [ $(\text{Ca})_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ] identificada de acordo com a ficha cristalográfica 72-1243 do banco de dados do JCPDS. Estes resultados encontrados para o cimento

C2 estão em concordância com os resultados observados por Saeri et. al. (2003) quando estudaram a obtenção de hidroxiapatita pelo método da precipitação por via úmida. Para os novos cimentos preparados a partir da adição de 1, 3 e 5 de HAp ao MTA, designados cimentos C3, C4 e C5, respectivamente, observa-se a presença das mesmas fases presentes nos materiais precursores – MTA e HAp, que foram: silicato de cálcio  $[Ca_3(SiO_4)O]$ ; óxido de bismuto  $[\alpha-Bi_2O_3]$  (ficha cristalográfica 76-1730) e óxido de alumínio provenientes do MTA e a  $[(Ca)_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ , proveniente da HAp.

#### 4. 2 Fluorescência de Raios – X (EDX)

A Tabela 5 apresenta a composição química em percentual em peso dos óxidos presentes nos cimentos estudados MTA (C1), HAp (C2), MTA/HAp1% (C3), MTA/HAp3% (C4) e MTA/HAp5% (C5).

Tabela 5: Análise química por fluorescência de raios X dos cimentos estudados.

Óxidos	C1	C2	C3	C4	C5
CaO	64,94 %	53,35 %	66,23%	65,11%	64,77%
SiO <sub>2</sub>	15,85 %	4,03 %	13,83%	12,27%	14,53%
Bi <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	15,64 %	---	13,94%	12,67%	11,36%
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	3,00 %	---	3,29%	2,80%	3,91%
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	---	41,14 %	2,62%	6,32%	4,93%
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0,03 %	0,04 %	0,08%	0,09%	0,21%

Fonte: Própria, 2012.

Para o cimento C1 observou-se que o mesmo é composto principalmente por três óxidos, o CaO ( $\approx 65\%$ ), o SiO<sub>2</sub> ( $\approx 15,8\%$ ) e o Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ( $\approx 15,6$ ), apresentando ainda um pequeno percentual de Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ( $\approx 3\%$ ) e traços de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ( $\approx 0,03\%$ ). Esta composição química está em concordância com os resultados reportados por Mota et al (2010) quando realizou uma revisão da literatura sobre as propriedades e aspectos biológicos MTA.



Para o cimento C2 (HAp) observou-se a presença de dois óxidos principais, o CaO ( $\approx 53,35\%$ ) e o  $P_2O_5$  ( $\approx 41,14\%$ ), apresentando ainda um pequeno percentual de  $SiO_2$  ( $\approx 4,03\%$ ) e traços  $Fe_2O_3$  ( $\approx 0,04\%$ ). Esta composição química está em concordância com os resultados reportados por Lacerda et. al. (2006) quando avaliaram a síntese e caracterização de matrizes porosas de hidroxiapatita para aplicação como fontes radioativas em braquiterapia. Vale ressaltar ainda que a composição química encontrada para o cimento C2 está de acordo com a composição química teórica da hidroxiapatita (ver apêndice A), onde determina-se que a mesma é composta por aproximadamente 55,83% de CaO e de 42,38% de  $P_2O_5$ .

O cimento C3 (MTA/HAp1%) apresentou composição química de seis óxidos variados, provenientes de seus materiais precursores, o MTA e a HAp, sendo o CaO ( $\approx 66,23\%$ ), o  $SiO_2$  ( $\approx 13,83\%$ ) e o  $Fe_2O_3$  ( $\approx 0,08$ ). O  $Bi_2O_3$  ( $\approx 13,94\%$ ) e o  $Al_2O_3$  ( $\approx 3,29\%$ ) são componentes presentes no cimento C3 devido ao MTA apresentar estes óxidos em sua composição e o óxido de fósforo ( $\approx 2,62\%$ ) que é proveniente apenas da HAp.

Da mesma forma que no cimento C3, o cimento C4 (MTA/HAp3%) apresentou composição química de seis óxidos provenientes dos precursores, MTA e HAp. Onde o CaO,  $SiO_2$  e o  $Fe_2O_3$  em quantidades de aproximadamente 65,11%, 12,27% e 0,09%, respectivamente, provenientes tanto do MTA como da HAp, e os óxidos  $Bi_2O$  e o  $Al_2O_3$  que são componentes presentes no cimento C4 devido à presença dos mesmos na composição química do MTA, em que as quantidades presentes foram de 12,67% e 2,80%, respectivamente. Finalmente, o óxido de fósforo ( $\approx 6,32\%$ ) proveniente apenas da HAp.

Para o cimento C5 (MTA/HAp5%) apresentou composição química semelhante aos cimentos C3 e C4. Sendo o CaO ( $\approx 64,77\%$ ), o  $SiO_2$  ( $\approx 14,53\%$ ) e o  $Fe_2O_3$  ( $\approx 0,21$ ) provenientes tanto do MTA como da HAp, o  $Bi_2O_3$  ( $\approx 11,36\%$ ) e o  $Al_2O_3$  ( $\approx 3,91\%$ ) provenientes do MTA e o óxido de fósforo ( $\approx 4,93\%$ ) proveniente apenas da HAp.

Mediante os resultados observa-se uma boa correlação entre a composição dos novos cimentos (C3, C4 e C5) e os materiais usados como precursores que foi o MTA (C1) e a HAp (C2). Observa-se, porém que o teor de  $Bi_2O_3$  e  $SiO_2$  apresentados nos cimentos C3, C4 e C5 foram inferiores ao valor



presente no MTA (C1). Para o óxido de bismuto os valores percentuais foram de 10,87% (C3), 18,99% (C4) e 27,36% (C5) inferiores ao do MTA. O óxido de silício apresentou os valores percentuais de 12,74% (C3), 22,59% (C4) e 8,33% (C5) inferiores ao do MTA (C1).

O teor de  $Al_2O_3$  que foi observado nos cimentos C3, C4 e C5 apresentaram-se com teor em 6,67% (C2), 8,81% (C3) e 23,27% (C5), o que pode ser explicado pela presença de impurezas proveniente nos precursores usado para obtenção da HAp.

Vale salientar que o cimento C5 não apresentou a mesma sequência lógica de apresentar composição de  $Al_2O_3$  e  $Fe_2O_3$  inferior ao C1 (como ocorreu para o C3 e C4), provavelmente pelo fato do equipamento do EDX utilizar um balanço percentual total igual a 100% para determinar a quantidade dos componentes do material em questão e como houve redução de CaO e  $Bi_2O_3$  no C5 houve uma compressão de massa assim elevando os valores de óxido de alumínio e de óxido de ferro no C5 em relação ao C1.

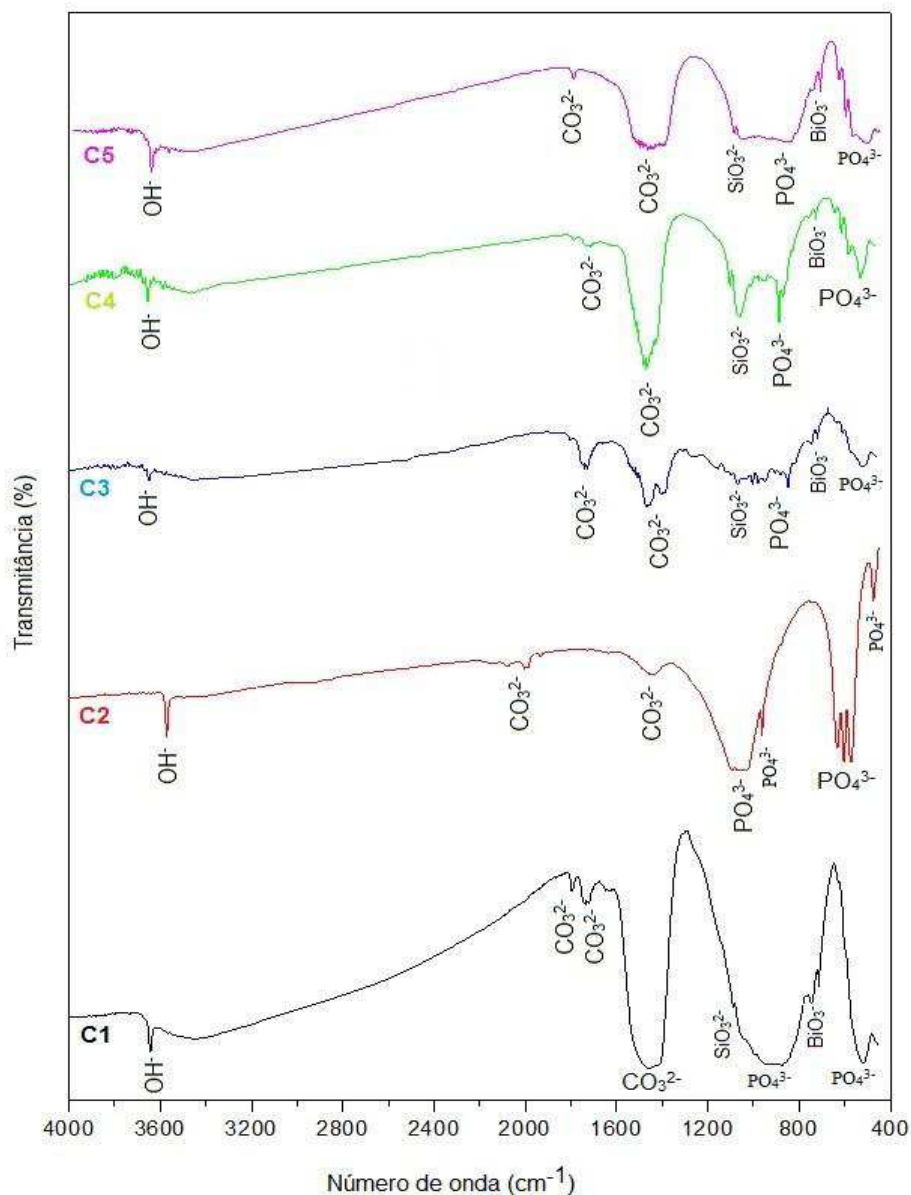
Ressalta-se que esta análise foi refeita e foram confirmados os valores apresentados na Tabela 5.

#### **4. 3 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)**

A Figura 21 ilustra os resultados da análise de FTIR para os cimentos C1, C2, C3, C4 e C5.

Analisando os espectros de FTIR, observa-se que para o cimento C1, foram visualizadas bandas de absorção nas regiões de  $3637\text{ cm}^{-1}$  correspondente à ligação O – H da hidroxila; em  $1793\text{ cm}^{-1}$ ,  $1727\text{ cm}^{-1}$  e  $1456\text{ cm}^{-1}$  bandas correspondente ao grupo  $CO_3^{2-}$ ; em  $1088\text{ cm}^{-1}$  banda correspondente ao grupo  $SiO_3^{2-}$ ; em  $903\text{ cm}^{-1}$  e  $521\text{ cm}^{-1}$  bandas correspondente ao grupo  $PO_4^{3-}$  e em  $745\text{ cm}^{-1}$  uma banda correspondente ao grupo  $BiO_3$ . Ressalta-se que todas as bandas de absorção observadas para o cimento C1 também foram observadas por E'Gues et al. (2008), quando analisaram o silicato (cimento *Portland* Branco) e hidroxiapatita sintetizada pela técnica de FTIR.

Figura 21: Espectroscopia na região do infravermelho para os cimentos estudados.



Fonte: Própria, 2012.

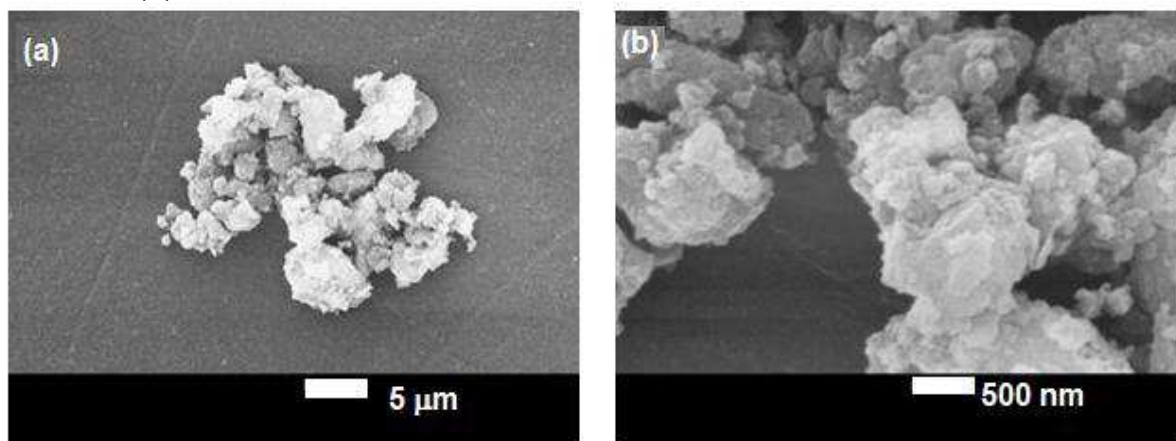
Para o cimento C2 (HAp) foram visualizadas bandas de absorção nas regiões de 3578  $\text{cm}^{-1}$  correspondente à ligação O – H da hidroxila; em 1977  $\text{cm}^{-1}$  e 1444  $\text{cm}^{-1}$  bandas correspondente ao grupo  $\text{CO}_3^{2-}$ ; em 1055  $\text{cm}^{-1}$ , 921  $\text{cm}^{-1}$ , 600  $\text{cm}^{-1}$  e 475  $\text{cm}^{-1}$  bandas correspondente ao grupo  $\text{PO}_4^{3-}$ . Todas as bandas de absorção visualizadas para o cimento C2 também foram observadas por Dedourková et al. (2012) quando estudaram a síntese de nanopartículas esféricas de hidroxiapatitas pelo método da precipitação química em pressão atmosférica.

Analisando conjuntamente os espectros de FTIR para os cimentos C3, C4 e C5 foram observadas bandas de absorção em torno de  $3650\text{ cm}^{-1}$  correspondente à ligação O–H da hidroxila; em aproximadamente  $1750\text{ cm}^{-1}$  e  $1440\text{ cm}^{-1}$  bandas correspondente ao grupo  $\text{CO}_3^{2-}$ ; em torno de  $1060\text{ cm}^{-1}$  bandas correspondente ao grupo  $\text{SiO}_3^{2-}$ ; por volta de  $850\text{ cm}^{-1}$  e  $520\text{ cm}^{-1}$  bandas correspondente ao grupo  $\text{PO}_4^{3-}$ ; em aproximadamente  $700\text{ cm}^{-1}$  bandas correspondentes ao grupo  $\text{BiO}_3$ . Todas essas bandas de absorção foram observadas tanto no cimento C1 (MTA) quanto no cimento C2 (HAp), comprovando a obtenção de um novo cimento endodôntico composto pelos dois materiais precursores.

#### 4. 4. Microscopia Eletrônica de Varredura

As Figuras de 22 a 26 ilustram os resultados obtidos por microscopia eletrônica de varredura para os cimentos C1, C2, C3, C4 e C5.

Figura 22: Microscopia eletrônica de varredura do cimento C1: (a) aumento de 10000X e (b) aumento de 20000X.



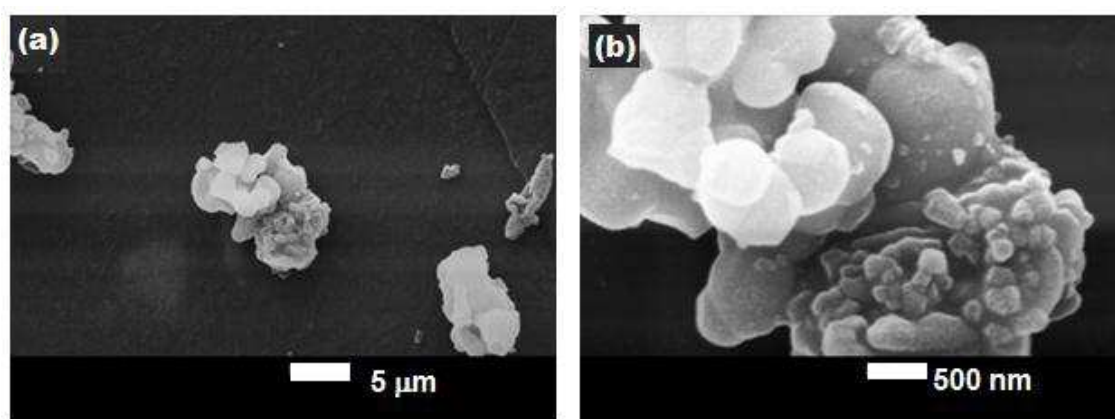
Fonte: Própria, 2012.

Por meio das micrografias apresentadas na Figura 22a, verifica-se que a morfologia do cimento C1 (MTA) é constituída por aglomerados com formato arredondado e uma distribuição de tamanho estreita, com tamanho inferior a  $2\text{ }\mu\text{m}$ . Mediante a Figura 22b, observa-se que estes aglomerados são aparentemente formados por partículas pequenas, sem porosidade interpartícula e totalmente ligados (pré-sinterizados). Esta morfologia também

foi observada por Oliveira et al (2007b) para o MTA comercial da Angelus, quando realizaram um estudo comparativo entre o MTA da Pro-Root e da Angelus e o cimento de *Portland*.

Analisando as micrografias contidas na Figura 23 observa-se que a morfologia do cimento C2, é constituída por aglomerados de tamanho menores que 5  $\mu\text{m}$ , com uma distribuição estreita do tamanho e de formato de blocos irregulares, como observado na Figura 23a. Por meio da Figura 23b, verifica-se que as partículas são aproximadamente esféricas, de tamanho inferior a 500 nm e se encontram pré-sinterizadas (com formação de pescoço entre as partículas), e que as mesmas encontram-se fortemente ligadas. Esta característica é típica de materiais submetidos a tratamento térmico em temperaturas elevadas. Morfologia semelhante à observada neste trabalho, hidroxiapatita em forma de aglomerados, também foi observada por Rigo et al (2007) para a HAp, quando um estudo sobre a síntese e caracterização de hidroxiapatita obtida pelo método da precipitação.

Figura 23: Microscopia eletrônica de varredura do cimento C2: (a) aumento de 10000X e (b) aumento de 20000X.

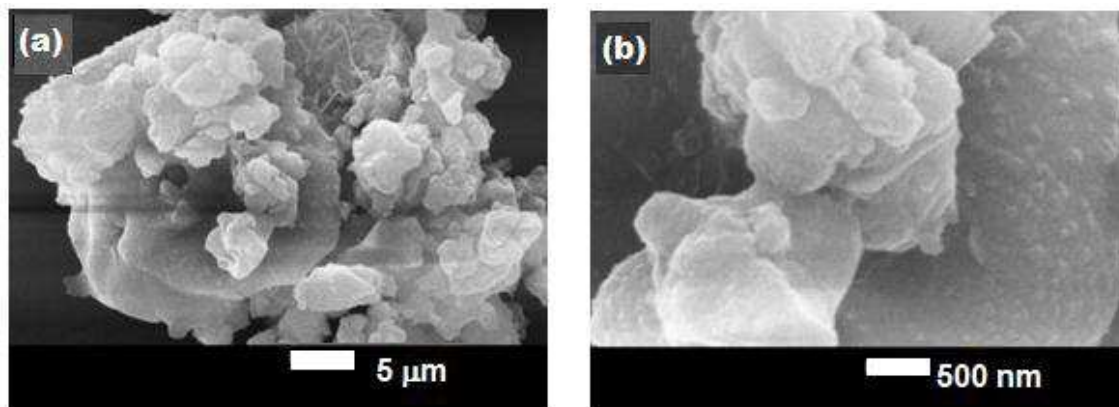


Fonte: Própria, 2012.

Por meio da micrografia da Figura 24a observa-se que a morfologia do novo cimento endodôntico C3 é constituída por aglomerados de partículas de tamanho e de formato irregular. Verifica-se mediante a Figura 24b, que as partículas são aproximadamente esféricas e se encontram também pré-sinterizadas como a HAp devido provavelmente ao tratamento térmico após a

incorporação de 1% em massa HAp no MTA. Observa-se ainda que estas partículas encontram-se fortemente ligadas.

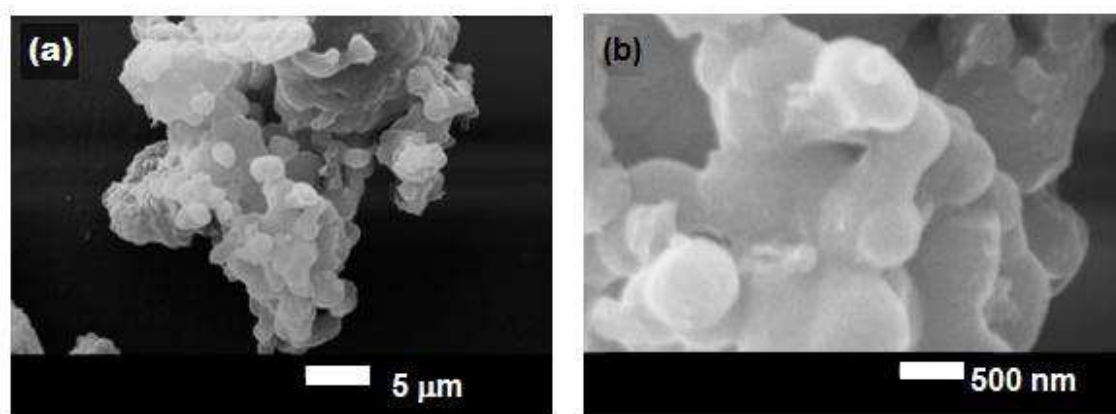
Figura 24: Microscopia eletrônica de varredura do cimento C3. (a) aumento de 10000X e (b) aumento de 20000X.



Fonte: Própria, 2012.

Por meio da Figura 25a observa-se que a morfologia do novo cimento C4 é constituída por aglomerados de partículas de tamanho e de formato irregular assim como observado na mistura C3. Verifica-se mediante a Figura 25b, que estas partículas são de formato aproximadamente esférico e se encontram também pré-sinterizadas como visto no cimento C2, devido ao tratamento térmico de 500°C por 2h após a incorporação de 3% em massa de HAp no MTA. Observa-se mais uma vez que as partículas estão fortemente ligadas.

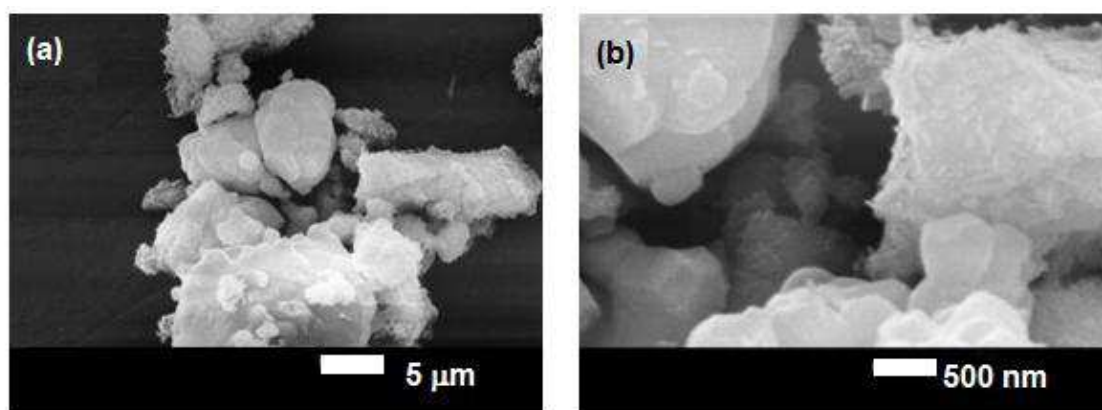
Figura 25: Microscopia eletrônica de varredura do cimento C4. (a) aumento de 10000X e (b) aumento de 20000X.



Fonte: Própria, 2012.

Mediante a Figura 26a verifica-se que a morfologia do cimento C5 é constituída por aglomerados de partículas tamanhos variados e formato de blocos irregulares, da mesma forma que foi observado nos C3 e C4. Por meio da Figura 26b, verifica-se partículas de formato esférico e pré-sinterizadas como visto no C2 (Figura 25), isto por causa, provavelmente, do tratamento térmico de 500°C por 2h após a incorporação de 5% em massa de HAp no MTA. Observam-se também partículas fortemente ligadas.

Figura 26: Microscopia eletrônica de varredura do cimento C5. (a) aumento de 10000X e (b) aumento de 20000X.



Fonte: Própria, 2012.

Analisando conjuntamente as Figuras 24, 25 e 26, observa-se que os tamanhos dos aglomerados tendem a diminuir com o aumento do percentual de hidroxiapatita adicionada ao MTA.

#### 4. 5. Aspecto Radiográfico (RX)

A Figura 27 apresenta o elemento dentário com preenchimento do cimento C1 e do C2, assim como a radiopacidade de ambos.

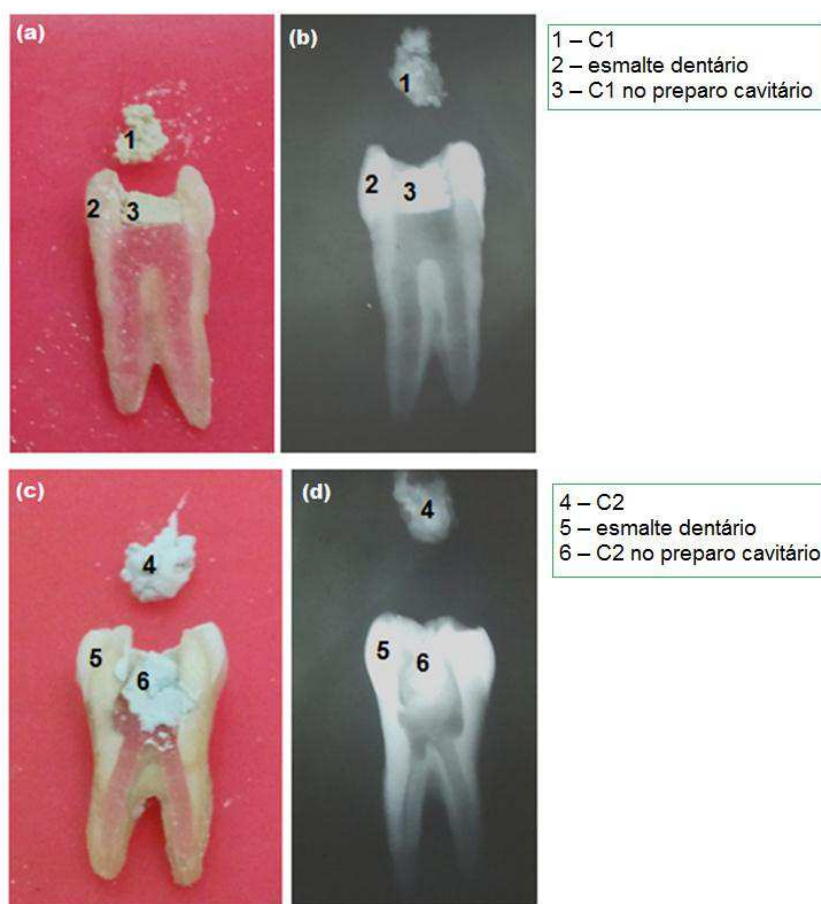
Na Figura 27a, observa-se o cimento C1 isolado e o mesmo presente no preenchimento de um preparo cavitário. Na Figura 25b observa-se a radiografia periapical do elemento dentário apresentado na Figura 27a, onde foi possível observar que o cimento C1 quando fora do elemento dentário apresenta um maior índice de radiopacidade quando comparado ao cimento C2,



característica essa que também foi observada quando o C1 está presente no preparo cavitário, isto foi visualizado por meio da alta definição entre os contornos do cimento C1 e do elemento dentário.

Resultados semelhantes ao desta tese para a radiopacidade do MTA foram observados por Asgary e Ehsani (2012) quando relataram um estudo de caso sobre o selamento apical de um dente incisivo utilizando o MTA.

Figura 27: Aspecto radiográfico do cimento C1 e C2: (a) elemento dentário com preenchimento do cimento C1, (b) radiopacidade do cimento C1, (c) elemento dentário com preenchimento do cimento C2 e (d) radiopacidade do C2.



Fonte: Própria, 2012.

Mediante a Figura 27c, observa-se o cimento C2 isolado e o mesmo presente no preenchimento de um preparo cavitário. Na Figura 27d, observa-se a radiografia periapical do elemento dentário apresentado na Figura 37c, onde foi possível observar que o cimento C2 quando fora do elemento dentário apresenta um menor índice de radiopacidade do que quando presente no

preparo cavitário. Isto foi visualizado por meio da falta da distinção entre os contornos do cimento C2 e do elemento dentário.

Comparando-se o aspecto radiográfico do cimento C2, em relação ao do cimento C1, verifica-se que o cimento C2 apresentou uma radiopacidade menor que a do cimento C1, uma vez que o mesmo apresenta em sua composição o óxido de bismuto, o qual é conhecido como elemento radiopaco, e é o responsável por proporcionar a radiopacidade do MTA.

A Figura 28 apresenta o elemento dentário com preenchimento dos cimentos C3, C4 e C5, assim como a radiopacidade dos respectivos cimentos citados.

Na Figura 28b observa-se a radiografia periapical do elemento dentário apresentado na Figura 33a, onde foi possível observar que o cimento C3, quando fora do elemento dentário apresenta um maior índice de radiopacidade comparado ao cimento C2 (ver Figura 28d). No entanto, levemente inferior à radiopacidade do cimento C1 (ver Figura 28b), característica essa que também foi observada quando o cimento C3 está presente no preparo cavitário.

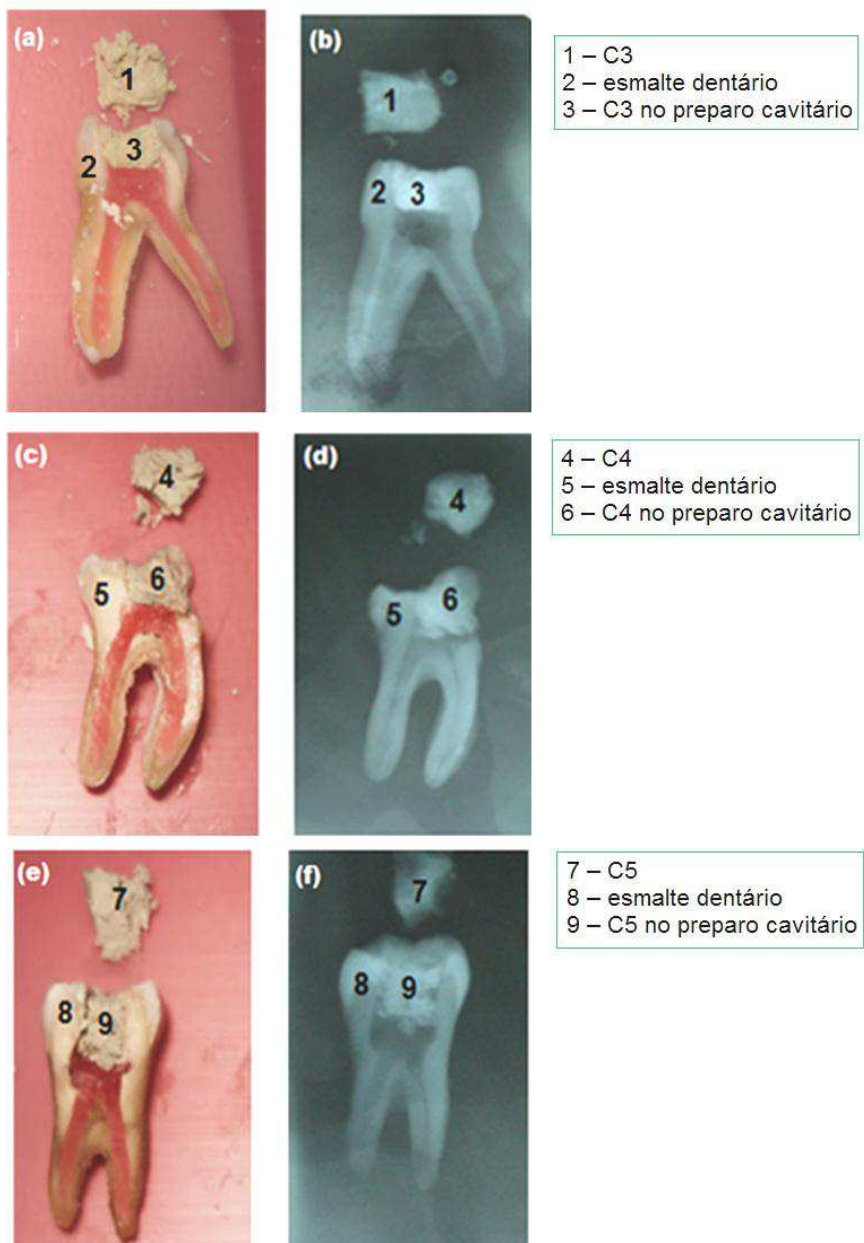
Na Figura 28d, observa-se a radiografia periapical do elemento dentário apresentado na Figura 28c, onde foi possível observar que o cimento C4 quando fora do elemento dentário também apresenta um maior índice de radiopacidade quando comparado ao cimento C2 (ver Figura 28d). Porém esta radiopacidade encontra-se inferior à radiopacidade do cimento C1 (ver Figura 28b), característica essa que também foi observada quando o cimento C4 está presente no preparo cavitário.

A Figura 28f apresenta a radiografia periapical do elemento dentário apresentado na Figura 33e, onde foi possível observar que o cimento C5 no exterior do elemento dentário, apresentando ainda um maior índice de radiopacidade se comparado com ao cimento C2 (Figura 28d), sendo também inferior à radiopacidade do cimento C1 (Figura 28b), observada também para o cimento C5 no interior do preparo cavitário.

Comparando os três novos cimentos entre si, observamos que o cimento C4 apresentou maior radiopacidade (menor quantidade de HAp) e o cimento C5 apresentou menor radiopacidade (maior quantidade de HAp), conseqüentemente, pode-se inferir que o aumento percentual de HAp incorporada ao MTA influencia negativamente na sua radiopacidade.



Figura 28: Aspecto radiográfico dos cimentos C3, C4 e C5. (a) elemento dentário com preenchimento do cimento C3, (b) radiopacidade do cimento C3, (c) elemento dentário com preenchimento do cimento C4 e (d) radiopacidade do cimento C4, (e) elemento dentário com preenchimento do cimento C5 e (f) radiopacidade do cimento C5.



Fonte: Própria, 2012.

Ressalta-se ainda a observação de uma boa radiopacidade para os três cimentos novos C3, C4 e C5 o que foi visualizado por meio da boa definição entre os contornos dos cimentos e do elemento dentário. Esta radiopacidade intermediária (maior que a do cimento C2 e menor que a do cimento C1) apresentada pelas misturas deve-se à presença da HAp

incorporada ao MTA. No entanto, pode-se observar que ainda há uma boa definição entre o cimento endodôntico e o elemento dentário, comprovando assim que o cimento MTA contendo as três concentrações HAp estudadas (1, 3 e 5%) em sua composição apresenta radiopacidade viável para ser utilizado como um cimento endodôntico.

#### 4. 6. Consistência

A Figura 29 exibe a fotografia dos cimentos durante o ensaio para a determinação da consistência. A Tabela 6 apresenta sucintamente os resultados obtidos no referido ensaio.

Tabela 6: Resultados obtidos para a consistência dos cimentos.

Material	Aparência na manipulação com água destilada		Consistência	Trabalhabilidade	Altura do cone (mm)
	Antes	Após			
<b>C1</b>	Cor creme, opaco, pouco brilho	Cor creme, opaco, brilhoso	Homogênea	Semelhante à da “massa de vidraceiro”*	9,05
<b>C2</b>	Cor branca, opaco, sem brilho	Cor branca, opaco, pouco brilho	Heterogênea	Quebradiça	7,75
<b>C3</b>	Cor creme, opaco, pouco brilho	Cor creme, opaco, brilhoso	Homogênea	Semelhante à da “massa de vidraceiro”	8,96
<b>C4</b>	Cor creme, opaco, pouco brilho	Cor creme, opaco, brilhoso	Homogênea	Semelhante à da “massa de vidraceiro”	8,61
<b>C5</b>	Cor creme, opaco, pouco brilho	Cor creme, opaco, brilhoso	Homogênea	Semelhante à da “massa de vidraceiro”	8,54

\* locução adverbial utilizada em endodontia para identificar a trabalhabilidade de um cimento endodôntico ideal.

Fonte: Própria, 2012.

Figura 29: Consistência dos cimentos estudados evidenciando, da direita para a esquerda: o cimento e água destilada fornecida pelo fabricante, o momento da manipulação do cimento com a água destilada, o cimento após manipulação e endurecimento e a medida observada no paquímetro.



Fonte: Própria, 2012.

Analisando os resultados contidos na Tabela 6 observamos que os cimentos C1, C3, C4 e C5 apresentaram resultados bastante semelhantes durante o ensaio de determinação de consistência, em que antes da manipulação dos referidos cimentos com a água destilada os mesmos apresentaram cor creme, opaca e com pouco brilho. Após a manipulação, verifica-se que, os cimentos apresentaram uma consistência de uma massa homogênea de cor creme, opaco e de aspecto brilhoso, e com uma trabalhabilidade semelhante a uma massa de vidraceiro, assim como a consistência observada por Fernandes (2011), ao estudar as propriedades biológicas do MTA. As alturas dos cones obtidos foram de 9,05, 8,96, 8,61 e 8,54 mm para os cimentos C1, C3, C4 e C5, respectivamente. Ressalta-se ainda que após 20 minutos da manipulação foi observado que todos os cimentos citados apresentaram ressecamento, seguido de endurecimento, porém ainda apresentando plasticidade aparente.

No entanto, o cimento C2 foi o único que apresentou características diferentes dos demais, em que antes da manipulação com água destilada o mesmo apresentou uma cor branca, opaca e sem brilho. Após a manipulação, verificou-se que o C2 apresentou uma consistência diferente dos demais, ou seja, uma consistência de uma massa heterogênea (que não mistura facilmente), de cor branca (com tonalidade próxima ao cinza), opaca e pouco brilhosa. A altura do cone obtida foi de 7,75 mm. Vale salientar que o C2 tomou presa, passados apenas 10 minutos do instante da manipulação, no entanto, a mesma não apresentou a plasticidade observada nos outros cimentos, o que não possibilitou mais a sua manipulação uma vez que a mesma fragmentou-se.

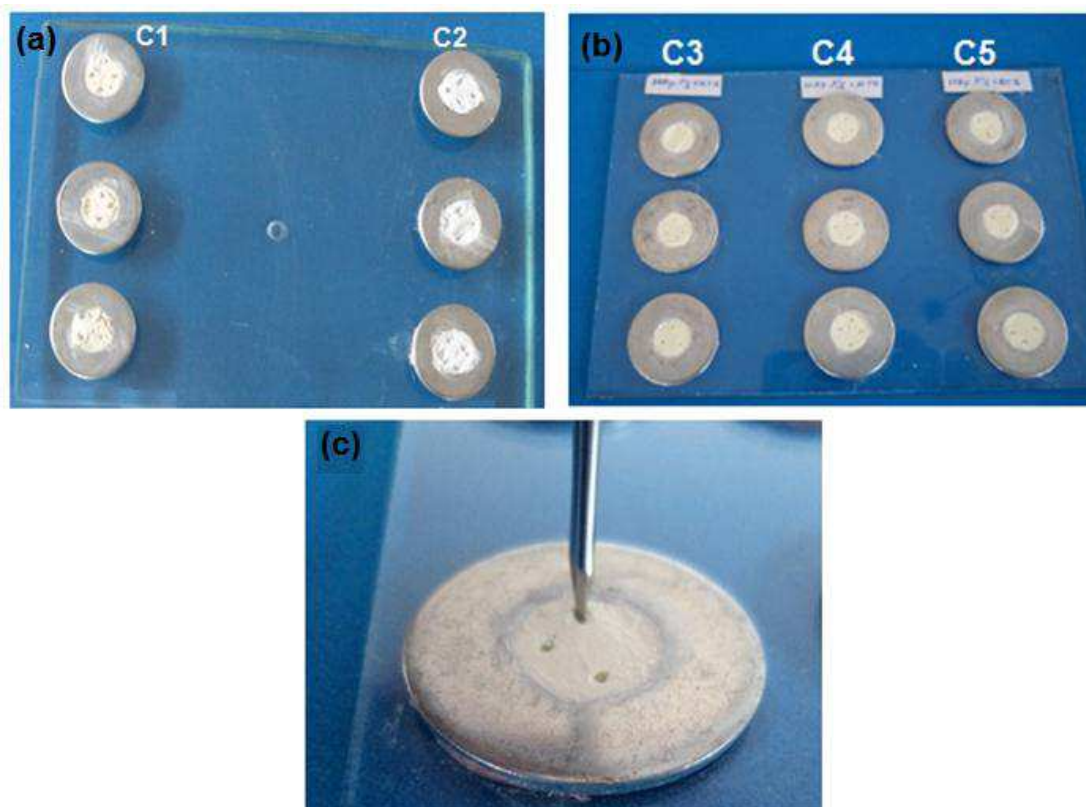
Desta forma comparando a consistência obtida para os cimentos, verifica-se que o C1 foi o que permitiu uma maior trabalhabilidade (indicado pela altura do cone), o C2 não apresentou trabalhabilidade satisfatória, e que os novos cimentos C3, C4 e C5 apresentaram consistência e trabalhabilidade semelhantes ao cimento C1, que é um material já utilizado no mercado como cimento endodôntico, sugerindo assim que, quanto à consistência, os novos cimentos obtidos apresentam potencial de utilização na endodontia.

#### 4. 7 Tempo de Endurecimento

Como já descrito no ítem 3.2.1.3.6 da metodologia, o experimento proposto por Pécora e Sousa Neto (2005) para a determinação do tempo de endurecimento de materiais odontológicos consiste em determinar-se o tempo decorrido entre o início da mistura (cimento + água destilada) e o momento no qual as marcas da agulha de Gillmore deixaram de ser visíveis na superfície dos cimentos testados.

A Figura 30 exibe a fotografia obtida para os cimentos no momento da determinação do tempo de endurecimento e na Tabela 7 encontram-se os resultados obtidos para este teste.

Figura 30: Determinação do tempo de endurecimento dos cimentos: (a) anéis preenchidos com os materiais C1 e C2, (b) anéis preenchidos com os materiais C3, C4 e C5, (c) detalhe do momento da perfuração com a agulha de Gillmore.



Fonte: Própria, 2012.

Tabela 7: Tempo de endurecimento dos cimentos estudados.

<b>Cimento</b>	<b>Tempo de endurecimento (min)</b>
C1	20
C2	10
C3	18
C4	15
C5	10

Fonte: Própria, 2012.

Analisando os resultados, observa-se que dentre os cimentos estudados o material que apresentou um maior tempo de endurecimento foi o cimento C1 (20 minutos), tempo este de acordo com o indicado pelo fabricante e também observado por Silva Neto e Moraes (2003) quando estudaram a capacidade seladora proporcionada por alguns materiais quando utilizados em perfurações na região de furca de molares humanos extraídos.

Para o cimento C2 e o cimento C5 foram observados o menor tempo de endurecimento (10 minutos), devido provavelmente, à característica higroscópica apresentada pela HAp (C1) e, no caso do cimento C5, apresentar maior percentual em massa de HAp do que os outros cimentos.

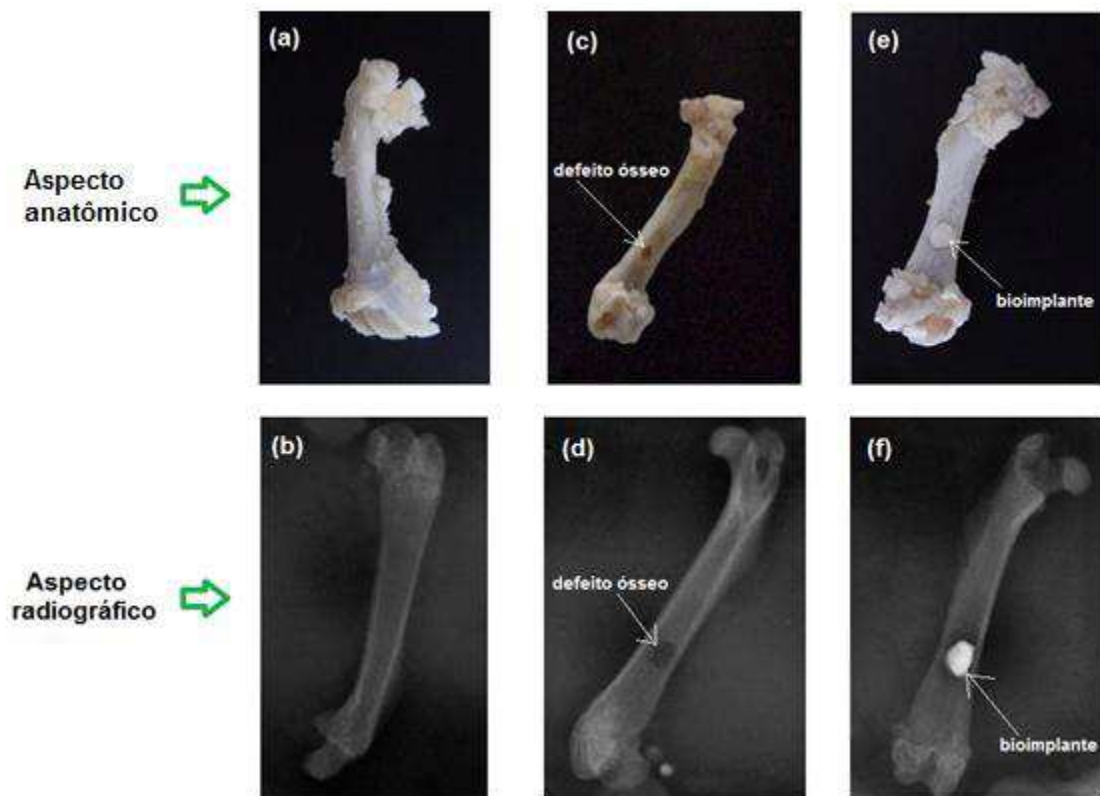
Comparando os três novos cimentos C3, C4 e C5, observa-se que a incorporação da HAp ao MTA ocasionou um decréscimo no tempo de endurecimento. No entanto, ressalta-se que como os três novos cimentos apresentaram, após o endurecimento, um aspecto de uma massa homogênea com trabalhabilidade semelhante ao do MTA; assim, estes cimentos mostraram-se viáveis para serem utilizados como um cimento endodôntico e ainda com a vantagem que endurecerem mais rapidamente do que o MTA, favorecendo assim um menor tempo de manipulação durante o procedimento clínico.



#### 4.8 Ensaios *In Vivo*: Aspecto Radiográfico

A Figura 31 ilustra fêmures de rato Wistar em três condições diferentes como o aspecto: anatômico e radiográfica.

Figura 31: Fêmures de rato Wistar e seus aspectos anatômico e radiográficos. (a) e (b) osso normal, (c) e (d) osso com defeito ósseo produzido cirurgicamente, (e) e (f) osso com o bioimplante inserido no defeito ósseo.



Fonte: Própria, 2012.

Analisando a (Figura 31a) observa-se que o fêmur é um osso longo e consiste em uma diáfise e duas epífises, a (Figura 31b) radiograficamente apresentam limites radiopacos e no seu interior trabéculas ósseas e espaços medulares.

Visualizar-se na (Figura 31c) o defeito ósseo confeccionado cirurgicamente radiograficamente presença de uma área radiolúcida circunscrita correspondente ao defeito ósseo (Figura 31d). Preenchimento do defeito ósseo com o bioimplante (Figura 31e), área radiopaca (esbranquiçado) correspondente ao preenchimento do defeito com o bioimplante, observado sob raios-X (Figura 31f).

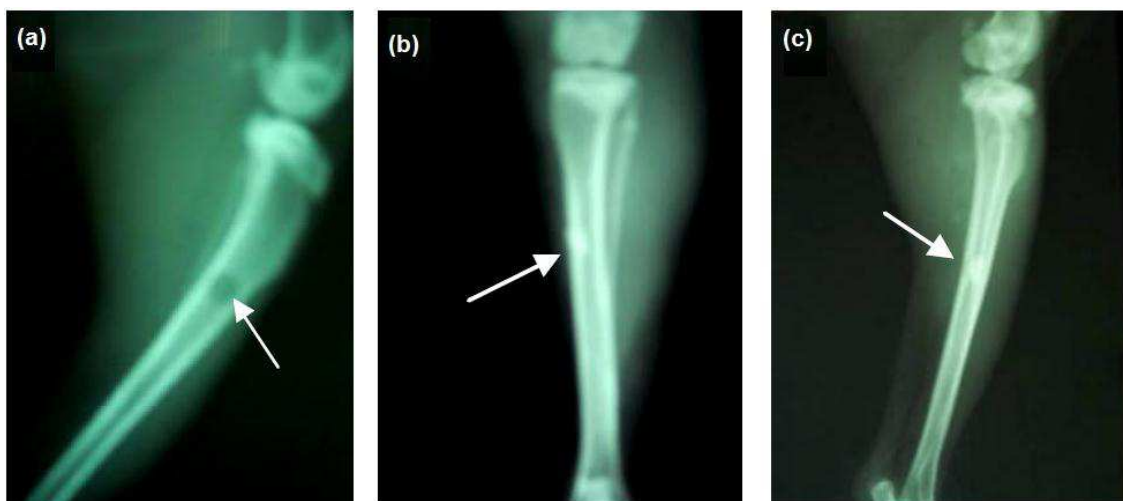
A Tabela 8 apresenta a classificação da radiopacidade, enquanto que a Figura 32 ilustra os graus de radiopacidade observados em tíbias de coelho.

Tabela 8: Classificação da radiopacidade

<b>Grau</b>	<b>Caracterização radiográfica</b>
0	Radiopacidade intensamente menor do que a cortical do osso circunvizinho
1	Radiopacidade discretamente menor do que a cortical do osso circunvizinho
2	Radiopacidade igual à cortical do osso circunvizinho
3	Radiopacidade menor do que a cortical do osso circunvizinho

Fonte: Vital et. al. (2008)

Figura 32: Ilustração dos graus de radiopacidade observados em tíbias de coelho. (a) grau 0, (b) grau 1, (c) grau 2.



Fonte: Vital et. al. (2008)

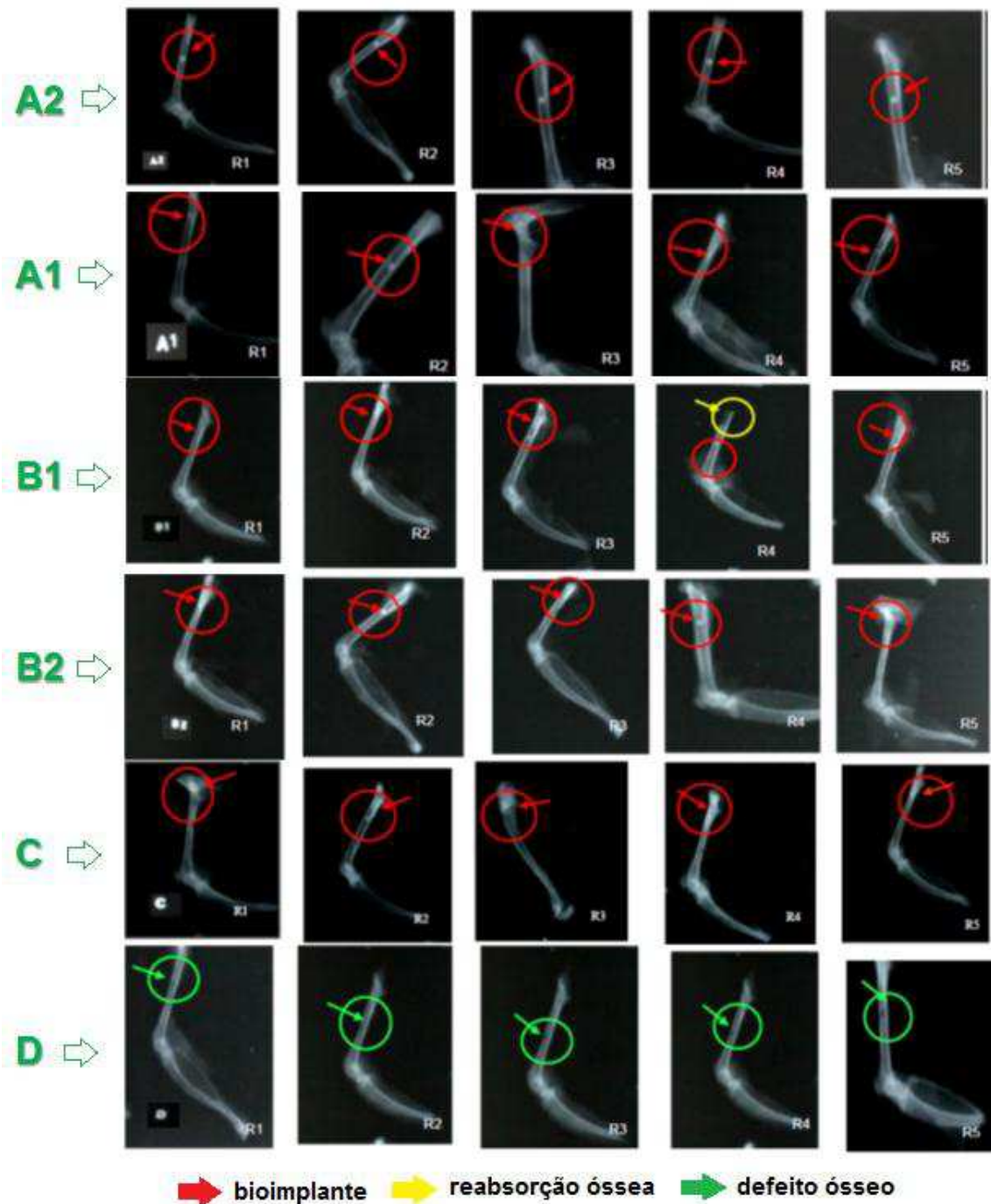
As radiografias apresentadas na Figura 31 e a classificação da radiopacidade apresentada na Tabela 8 e Figura 32 serão tomadas como referência para a análise do aspecto radiográfico *in vivo*.



#### 4.8.1 Aspecto radiográfico após quinze dias do implante

A Figura 33 ilustra o aspecto radiográfico dos fêmures dos animais após 15 dias da realização do implante com os cimentos estudados.

Figura 33: Aspecto radiográfico dos fêmures dos animais após 15 dias da realização do implante.



Fonte: Própria, 2012.

Analisando as radiografias dos grupos A1, A2, B1, B2 e C verifica-se que bioimplante (marcado de vermelho) ainda encontra-se presente no local do defeito ósseo, ou seja, o material ainda não foi totalmente absorvido pelo organismo, e que mesmo assim já ocorreu neoformação óssea em alguns animais, sendo este efeito evidenciado na região mais radiopaca, de graus variando de 0 a 1 próxima ao local do implante. A associação da evolução da radiopacidade com a neoformação óssea foi também relatada por Vital et. al. (2006) quando estudaram a biocompatibilidade e o comportamento de compósitos de hidroxiapatita em falha óssea na ulna de coelhos.

Analisando as radiografias do grupo D (grupo controle), observa-se perfeitamente o local onde foi produzido o defeito ósseo, evidenciando que ainda não ocorreu nenhuma neoformação óssea para os cinco animais utilizados neste grupo.

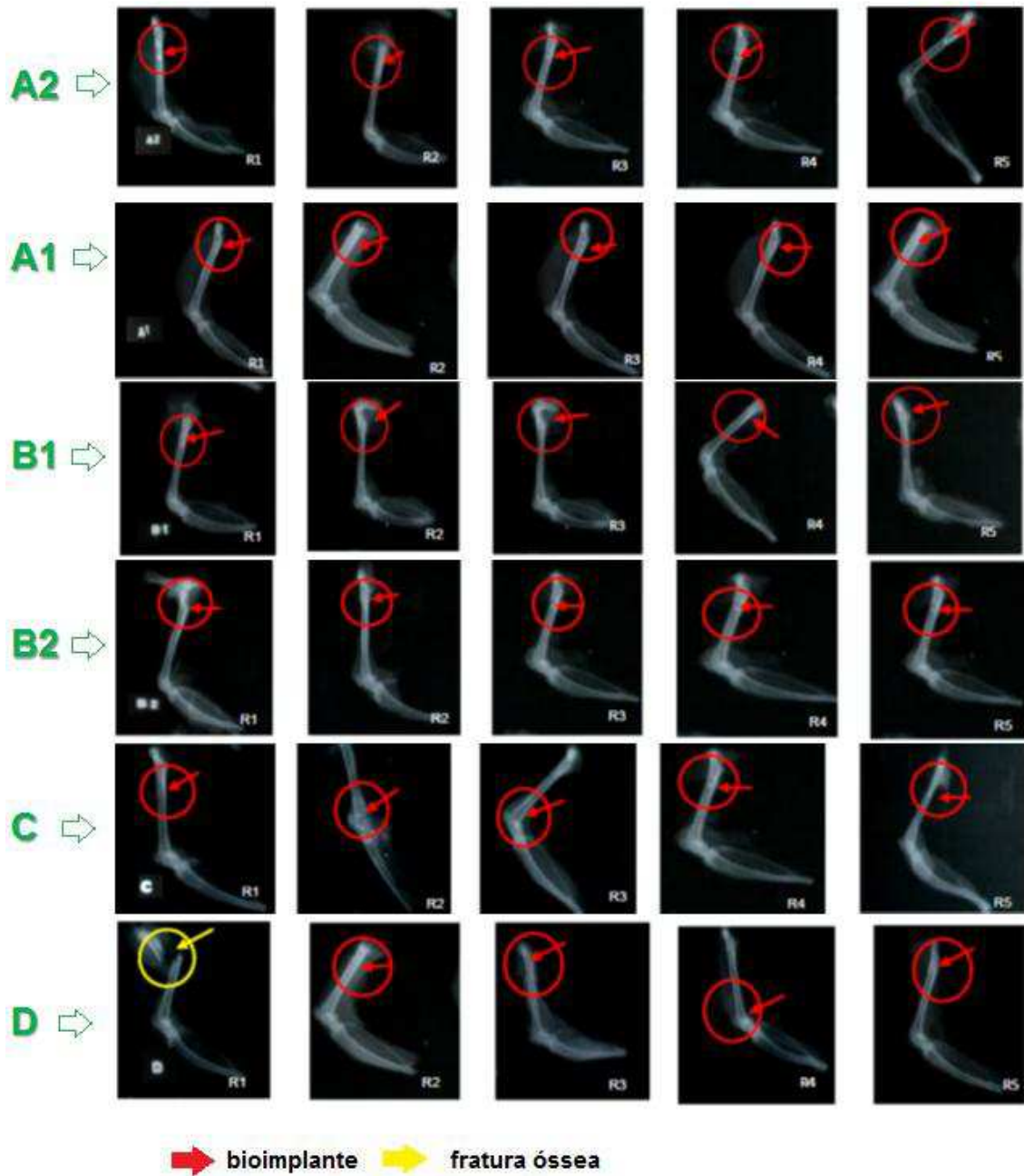
No grupo B1 observa-se ainda que ocorreu reabsorção óssea, fenômeno natural, fisiológico, decorrente do metabolismo do animal e que não tem relação nenhuma com o bioimplante.

Analisando conjuntamente os grupos A1, A2, B1, B2, C e D verifica-se que em todos os grupos em que foi utilizado material de implante houve algum grau de neoformação óssea, o que não foi observado no grupo D no qual não foi utilizado qualquer material de implante. Desta forma, fica evidenciada a característica de osseocondução para todos os cimentos estudados. No entanto, os cimentos C2, C3, C4 e C5, utilizados nos grupos A1, B1, B2 e C respectivamente, mostraram-se mais osteocondutores do que o cimento C1 utilizado no grupo A2, fato este observado pela neoformação óssea menos acentuada apresentada pelos animais deste grupo.

#### 4.8.2 Aspecto radiográfico após trinta dias do implante

A Figura 34 ilustra o aspecto radiográfico dos fêmures dos animais após 30 dias da realização do implante com os cimentos estudados.

Figura 34: Aspecto radiográfico dos fêmures dos animais após 30 dias da realização do implante.



Fonte: Própria, 2012.

Por meio das radiografias dos grupos A1, A2, B1, B2 e C verifica-se a presença mais acentuada da neoformação óssea (graus 1 e 2) para todos os animais dos quatro grupos, evidenciado pela região ainda mais radiopaca em torno do local onde foi colocado o bioimplante. Verifica-se ainda para o grupo

A2 a evidência do bioimplante com radiopacidade de grau 3, evidenciando que o mesmo não está sendo absorvido pelo organismo do animal. Nos outros grupos (A1, B1, B2 e C) observa-se que à medida que a neoformação óssea de desenvolve o bioimplante passa a ser absorvido pelo osso neoformado, ou seja, apresenta neste estágio, radiopacidade de grau 2. Estes resultados corroboram com Vital et. al. (2008) quando estudaram a hidroxiapatita associada à lignina no preenchimento de falha óssea experimental na tíbia de coelhos.

Nas radiografias do grupo D, observa-se também a presença de neoformação óssea, porém apenas de grau 1. Ressalta-se ainda que ocorreu fratura óssea em um animal deste grupo e que este fenômeno não apresenta nenhuma correlação com o bioimplante.

Analisando conjuntamente os grupos A1, A2, B1, B2, C e D para o observa-se que em todos os grupos em que foi utilizado material de implante houve neoformação óssea mais acentuada do que no grupo D (grupo controle) Assim, mais uma vez fica comprovada a indução de osseocondução provocada por todos os cimentos estudados. Observou-se novamente que os cimentos C2, C3, C4 e C5 mostraram-se mais osteocondutores do que o cimento C1 o que também foi visualizado nos grupos de 15 dias após o implante.

#### 4.8.3 Aspecto radiográfico após quarenta e cinco dias do implante

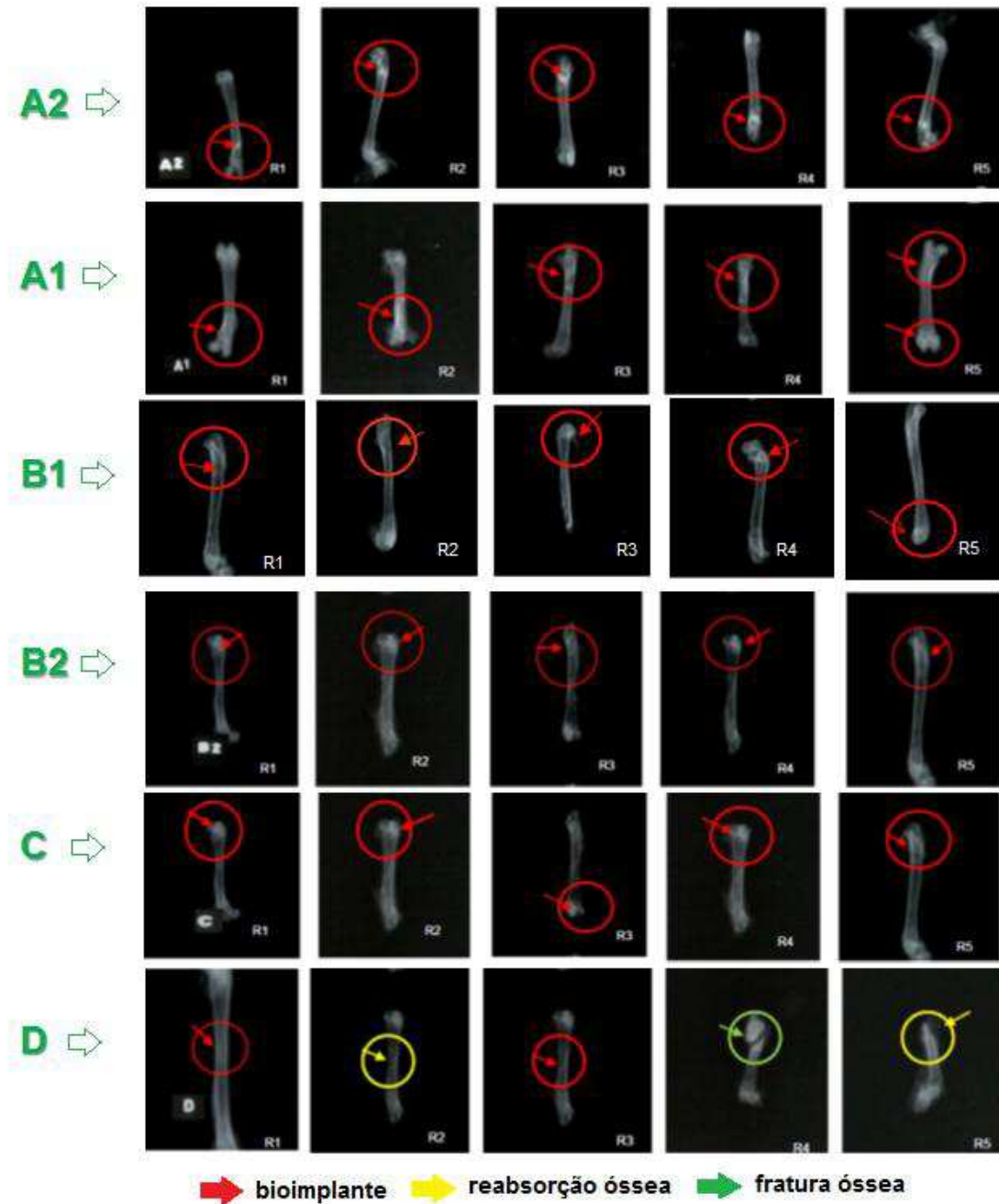
A Figura 35 ilustra o aspecto radiográfico dos fêmures dos animais após 45 dias da realização do implante com os cimentos estudados.

Observando as radiografias dos grupos A1, A2, B1, B2 e C verifica-se a neoformação óssea completa (grau 2) para todos os animais dos quatro grupos, evidenciado pela radiopidade homogênea em torno do local onde foi colocado o bioimplante, não sendo mais possível identificá-lo. Verifica-se ainda para o grupo A2 a evidência do bioimplante com radiopacidade de grau 3, evidenciando que o mesmo não foi absorvido pelo organismo do animal mesmo após 45 da cirurgia.

Nas radiografias do grupo D, observa-se também a presença de neoformação óssea, de grau 1 para a maioria dos animais e de grau 2 para apenas um animal. Verifica-se que ocorreu fratura e reabsorção óssea em um

animal deste grupo e que estes fenômeno não apresentam nenhuma correlação com o bioimplante.

Figura 35: Aspecto radiográfico dos fêmures dos animais após 45 dias da realização do implante.



Fonte: Própria, 2012.

Analisando conjuntamente os grupos A1, A2, B1, B2, C e D confirma-se que os cimentos C2, C3, C4 e C5 são osteocondutores pelo fato de serem absorvidos pelo organismo à medida que a neoformação óssea se desenvolve; e que o cimento C1 é selante, pois mesmo com a neoformação óssea completa ainda é evidente a sua presença no local em que foi implantado. Para o cimento C2 confirma-se que, dentre os materiais estudados este foi o que mais apresentou atividade osteocondutora.

Por fim, os resultados *in vivo* desta tese estão de comum acordo com os inúmeros resultados encontrados na literatura, em que diversos trabalhos já relataram a característica osteocondutora da HAp (C2) (BICALHO et. al., 2011) e seladora do MTA (C1) (ANGELUS, 2012).

## **4.9 Ensaio *In Vivo*: Aspecto Histomorfológico**

### 4.9.1 Aspecto histomorfológico após quinze dias do implante

A Figura 36 ilustra o aspecto histomorfológico dos fêmures dos animais após 15 dias da realização do implante com os cimentos estudados.

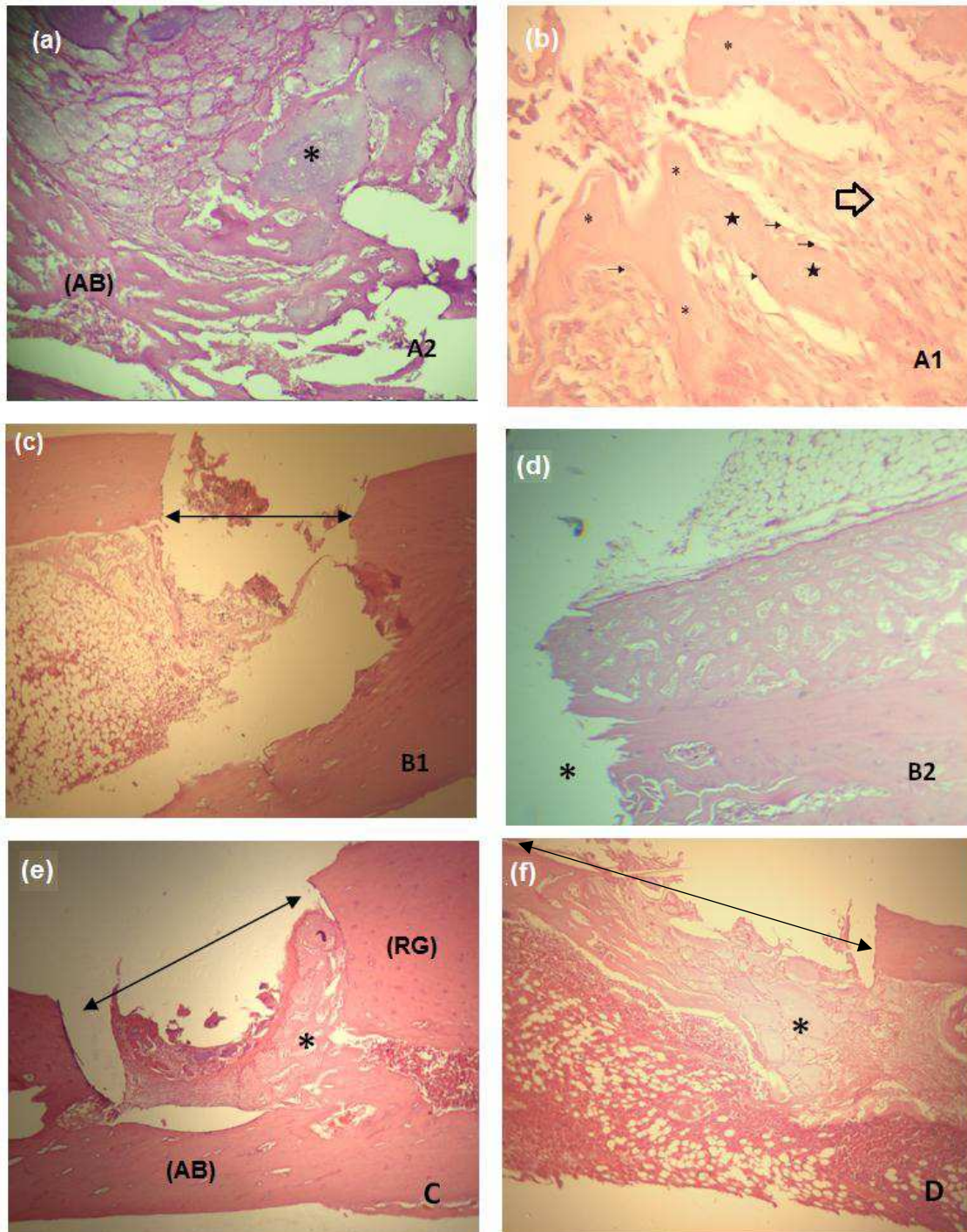
Na Figura 36a (fotomicrografia do grupo A2) pode se evidenciar a presença de intensas áreas basofílicas (AB) que correspondem a processo inflamatório decorrente da confecção do defeito ósseo, que são compatíveis com a presença de material inserido no local, bem como a ausência de neoformação óssea. Verifica-se ainda o C1 implantado no defeito ósseo (★), mantendo suas propriedades de baixa solubilidade em fluidos teciduais, não apresentando osteocondução. Holland et. al. (2002) observou aspecto morfológico semelhante ao verificar o comportamento biológico do MTA em perfurações radiculares de dentes de cães.

Na Figura 36b (fotomicrografia do grupo A1) verifica-se a presença de neoformação óssea através da visualização de trabéculas ósseas (★), as quais exibem em sua periferia numerosos osteoblastos (→), que são células responsáveis pela estimulação da neoformação óssea e no seu interior células volumosas que correspondem aos osteócitos (★) que são células maduras derivadas dos osteoblastos. Em meio as trabéculas ósseas observa-se a presença de uma área de fibroplasia (⇒), ou seja, formação de tecido fibroso



que é uma fase normal do processo de cicatrização. Ressalta-se que o aspecto histomorfológico apresentado neste grupo foi bastante semelhante ao observado por Vital et. al. (2008) para defeitos ósseos em tíbias de coelho após 15 dias de implante com HAp associada a lignina.

Figura 36: Aspecto histomorfológico dos grupos após 15 dias do implante. (a) grupo A2, (b) grupo A1, (c) grupo B1, (d) grupo B2, (e) grupo C e (f) grupo D.



Fonte: Própria, 2012.

Na fotomicrografia do grupo B1 (Figura 36c) evidencia-se a presença do defeito ósseo induzido ( $\leftrightarrow$ ) sem nenhum indício de neoformação óssea, indicando que a presença do C3 no defeito ósseo não estimulou a osteocondução. Para o grupo B2 (Figura 36d) observa-se também a presença do defeito ósseo induzido ( $\star$ ) sem nenhum indício de neoformação óssea indicando também que o C4 não estimulou a osteocondução.

Já com relação ao grupo C (Figura 36e) verifica-se a presença do defeito ósseo induzido ( $\leftrightarrow$ ) com início de neoformação óssea na sua área central com evidência de delicadas trabéculas ósseas ( $\star$ ) como indicativo de formação de novo osso. Em permeio ainda pode ser visto uma reação de granulação (RB) e, mais superficialmente, áreas basofílicas (AB) compatíveis com material inserido no defeito ósseo. Assim, afirma-se que o grupo C apresentou uma melhor resposta de neoformação óssea em comparação aos grupos A2, B1 e B2.

Finalmente na Figura 36f (fotomicrografia do grupo D - controle) observa-se o defeito ósseo induzido ( $\leftrightarrow$ ) sem qualquer indício de neoformação óssea. Pode-se evidenciar a presença de áreas basofílicas ( $\star$ ) compatível com processo inflamatório decorrente da confecção do defeito ósseo.

#### 4.9.2 Aspecto histomorfológico após trinta dias do implante

A Figura 37 ilustra o aspecto histomorfológico dos fêmures dos animais após 30 dias da realização do implante com os cimentos estudados.

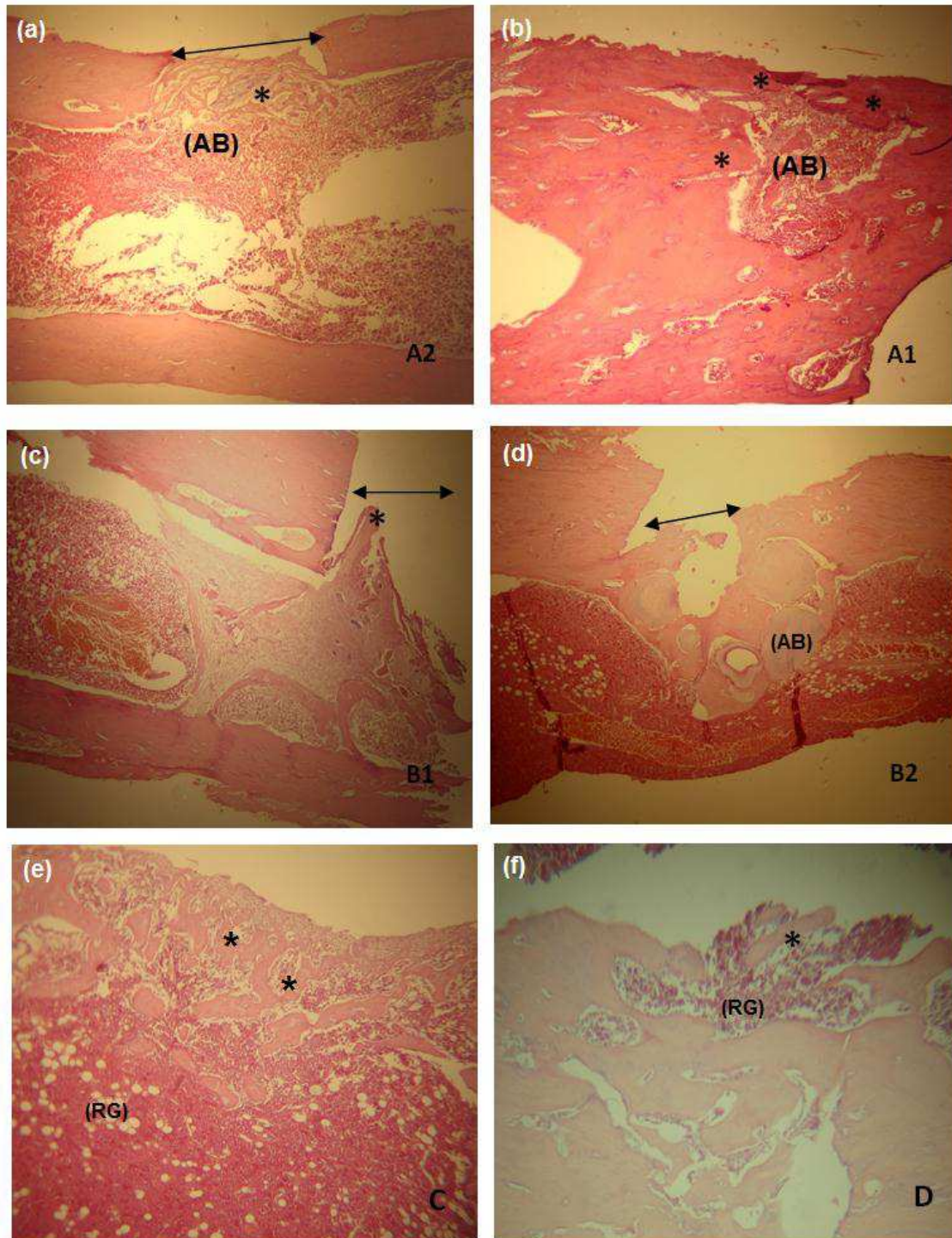
Na Figura 37a (grupo A2) evidencia-se uma moderada neoformação óssea ( $\star$ ) induzindo o fechamento do defeito ósseo ( $\leftrightarrow$ ) quase que em sua totalidade, na parte mais superficial. Na região mais profunda do defeito ósseo observa-se a presença de uma reação de granulação composta por áreas de fibroplasia, neovascularização e escasso infiltrado inflamatório crônico.

Na Figura 37b (grupo A1) observa-se uma intensa neoformação óssea ( $\star$ ) não sendo mais evidente a área do defeito ósseo induzido, caracterizada pela presença de trabéculas ósseas. Na região central do defeito ósseo ainda podem ser vistas áreas basofílicas compatíveis com o material inserido no local. O aspecto histomorfológico apresentado neste grupo foi bastante



semelhante ao observado por Vital et. al. (2006) para defeitos ósseos em ulna de coelho após 30 dias de implante com compósitos de HAp.

Figura 37: Aspecto histomorfológico dos grupos após 30 dias do implante. (a) grupo A2, (b) grupo A1, (c) grupo B1, (d) grupo B2, (e) grupo C e (f) grupo D.



Fonte: Própria, 2012.

Na Figura 37c (grupo B1) observa-se a área de defeito ósseo ainda aberto ( $\leftrightarrow$ ) com leve neoformação óssea ( $\star$ ). Na Figura 37d (grupo B2) já observa-se uma área de neoformação óssea moderada no intuito de promover o fechamento do defeito ósseo ( $\leftrightarrow$ ). Na região mais profunda do defeito ósseo podem ser vistas intensas áreas basofílicas (AB) compatível com material inserido no local do defeito. Com isso infere-se que o cimento C1, utilizado no grupo B1, induziu à uma neoformação leve enquanto o C2, utilizado no grupo B2) induziu à uma neoformação moderada.

Na Figura 37e (grupo C) verifica-se a presença de moderada neoformação óssea com numerosas e trabéculas ósseas ( $\star$ ) em permeio a reação de granulação (RG). Na Figura 37f (grupo D) observa-se, na área do defeito induzido, trabéculas ósseas neoformadas em arranjos desorganizados ( $\star$ ) e ainda a presença de reação de granulação em permeio a neoformação óssea leve.

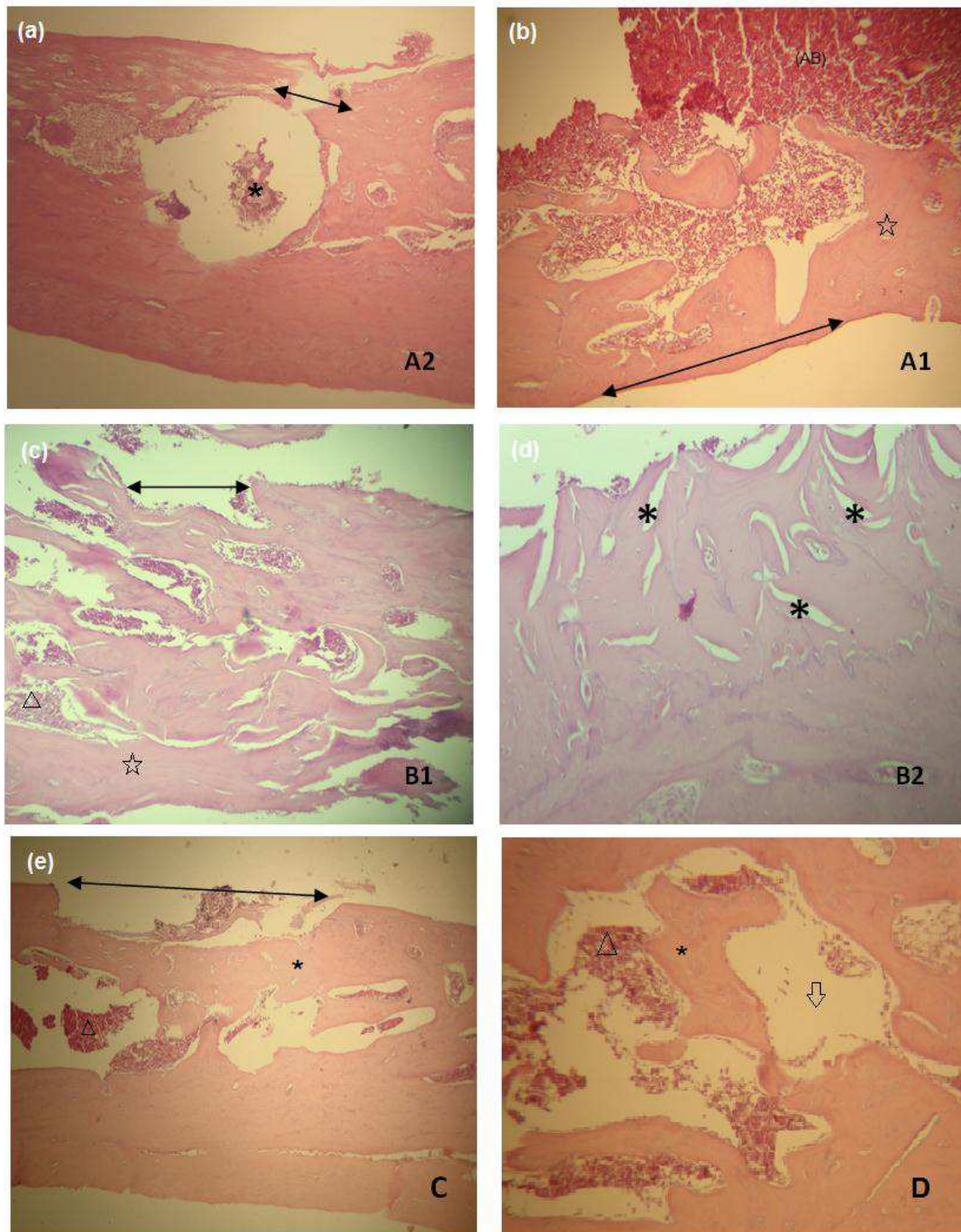
Comparando todos os grupos verifica-se que o A1 foi o que apresentou maior atividade de neoformação óssea devido ao tipo de bioimplante utilizado. Entre os grupos B1, B2 e C, que utilizam bioimplante de misturas dos cimentos C1 + C2 (MAT + HAp), o grupo C apresentou maior quantidade de osso neoformado, devido ao maior percentual de C2 presente no mesmo (5%). Os grupos A2 e D foram os que apresentaram menor atividade de neoformação, já que o grupo A2 utilizou o bioimplante C1 e o grupo D não utilizou material algum, ficando a formação de osso novo totalmente devido ao processo de cicatrização fisiológico do animal.

#### 4.9.3 Aspecto histomorfológico após quarenta e cinco dias do implante

A Figura 38 ilustra o aspecto histomorfológico dos fêmures dos animais após 45 dias da realização do implante com os cimentos estudados.



Figura 38: Aspecto histomorfológico dos grupos após 45 dias do implante. (a) grupo A2, (b) grupo A1, (c) grupo B1, (d) grupo B2, (e) grupo C e (f) grupo D.



Fonte: Própria, 2012.

Analisando a Figuras 38a e 38b (grupo A2 e A1, respectivamente), observa-se uma neoformação óssea completa na área do defeito induzido (↔) no grupo A1, pois o mesmo já se encontra totalmente fechado, e que

comparando com o grupo A2 também observa a presença de neoformação óssea, porém incompleta, já que o defeito ósseo ( $\leftrightarrow$ ) não está totalmente fechado. É possível visualizar na Figura 38a ainda a presença do bioimplante ( $\star$ ). Na Figura 38b observa-se a área basofílica (BS) decorrente do processo de cicatrização e uma grande área de osso novo ( $\star$ ).

Na Figura 38c (grupo B1) observa-se a presença de numerosas trabéculas ósseas neoformadas ( $\star$ ), com arranjo desorganizado, em permeio a áreas de reação de granulação ( $\blacktriangle$ ). Na Figura 38d (grupo B2) evidencia-se a presença de volumosas trabéculas ósseas neoformadas ( $\star$ ), com um arranjo mais organizado, comparado com o grupo B1 e ainda com ausência de reação de granulação.

Na Figura 38e (grupo C) observa-se a presença de neoformação óssea intensa ( $\star$ ) preenchendo o defeito ósseo ( $\leftrightarrow$ ) e ainda pequenas áreas de reação de granulação ( $\blacktriangle$ ). Na Figura 38f (grupo D) evidencia-se a neoformação óssea ( $\star$ ) com a presença de numerosas trabéculas ósseas as quais exibem em seu interior osteócitos volumosos ( $\Downarrow$ ), em permeio as trabéculas podem ser vistas áreas de reação de granulação ( $\blacktriangle$ ).

Comparando novamente todos os grupos verifica-se o mesmo comportamento observado nos tempos de 15 e 30 dias: o grupo A1 foi o que apresentou maior atividade de neoformação óssea, os grupos B1, B2 e C, apresentaram tendência de aumento de quantidade de osso neoformado, com o aumento do percentual de C2 adicionado, e os grupos A2 e D foram os que apresentaram menor atividade de neoformação, ficando a formação de osso novo totalmente devido ao processo de cicatrização fisiológica do animal.

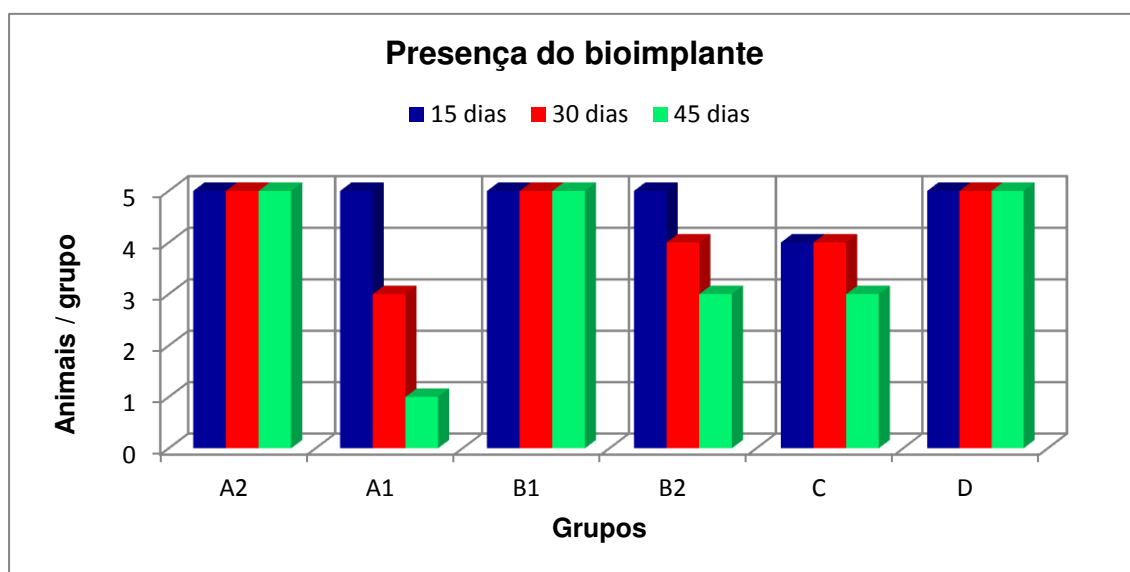
Afirma-se, portanto, que os resultados de aspecto hismorfológico confirmam os resultados do aspecto radiográfico, em que os ensaios *in vivo* desta tese corroboram com os inúmeros resultados encontrados na literatura, em diversos trabalhos que já relataram a característica osteocondutora da HAp (C2) (BICALHO et. al., 2011) e seladora do MTA (C1) (ANGELUS, 2012).

## 4.10 Análise Estatística

### 4.10.1 Avaliação estatística dos dados radiológicos

As Figuras 39 a 40 apresentam a análise estatística dos resultados obtidos para o ensaio *in vivo* realizado com os cimentos estudados, são eles: presença do bioimplantes e neoformação óssea, para cada um dos tempos estudados de 15, 30 e 45 dias após o procedimento cirúrgico. As Tabelas 9 e 10 apresentam os resultados estatísticos detalhados para a análise de presença do bioimplante e de neoformação óssea completa e encontram-se nos Anexos E e F.

Figura 39: Evolução da presença do bioimplante no defeito ósseo induzido cirurgicamente de acordo com o tempo após a implantação.

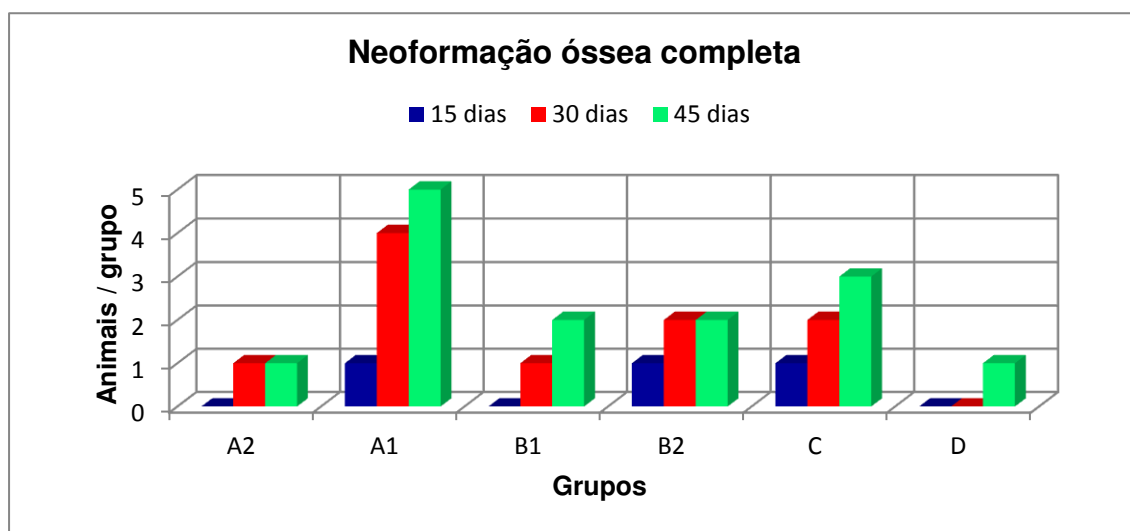


Fonte: Própria, 2012

Analisando a Figura 39 observa-se que nos grupos A1, B2 e C houve uma tendência do bioimplante ser absorvido pelo organismo do animal com o passar dos dias após a realização do implante. Já nos grupos A2, B1 e D esse efeito não foi observado. Estes resultados confirmam novamente a característica do cimento C1 (MTA), utilizado no grupo A2, de ser um material selante e insolúvel em meio fisiológico, e a característica osteocondutora do cimento C2 (HAp), utilizado no grupo A1, de ser um material condutor para o crescimento ósseo e que à medida que o novo osso se desenvolve, o material

é absorvido pelo organismo. No grupo B1, que utilizou o cimento C3 (MTA+HAp1%) o efeito não foi observado provavelmente pelo fato do efeito do MTA ser predominante com relação ao da HAp. Já nos grupos B2 e C, que utilizaram os cimento C4 (MTA+HAp3%) e C5 (MTA+HAp5%) respectivamente, o efeito da HAp foi mais pronunciado em relação ao do MTA. No grupo D (controle) não houve a observação deste efeito uma vez que este grupo não utilizou bioimplante.

Figura 40: Evolução da neoformação óssea completa no defeito ósseo induzido cirurgicamente de acordo com o tempo após a implantação



Fonte: Própria, 2012

Analisando a Figura 40 observa-se que para os grupos A1, B2 e C, neoformação óssea completa já ocorreu a partir do 15º dia após a realização do implante. Nos grupos A2 e B1 a neoformação óssea completa só ocorreu a partir do 30º dia, e no grupo D só após o 45º dia. Estes resultados estão em concordância com o efeito de absorção do bioimplante apresentado na Figura 44 e confirmam que a utilização de um bioimplante à base de hidroxiapatita é benéfica para o processo de neoformação óssea. Aliado a isto, verifica-se que comparando o grupo D e o A2, vê-se claramente que o cimento C1 (MTA) também favorece a neoformação já que com seu selamento evita a infiltração do defeito com material bacteriano, o que inevitavelmente ocorre nos processos de cicatrização natural.

A Tabela 11, que se encontra no Anexo G, apresenta a média, desvio padrão e mediana do grau de neoformação óssea por grupo e tempo de avaliação. Desta tabela se destaca que: com exceção do grupo C que teve redução no valor da média de 15 para 30 dias nos demais grupos houve aumento do valor da média da avaliação de 15 para 30 dias; nos grupos A1, A2 e D houve redução de 0,20 no valor da média de 30 para 45 dias; nos grupos B1 e B2 os valores das médias nas avaliações com 30 e 45 dias foram iguais. A única diferença significativa entre os tempos de avaliação ocorreu no grupo A1 e através dos testes de comparações múltiplas pareadas de Kruskal-Wallis se comprova diferença significativa entre o tempo de 15 dias com cada um dos outros dois tempos.

Entre os grupos se verifica diferenças significativas entre os grupos em cada tempo de avaliação e destaca que: na avaliação com 15 dias as médias mais elevadas ocorreram nos grupos C (2,20) e A (1,80) e as menos elevadas nos grupos D (0,00) e A2 (0,60) e se comprova diferenças significativas entre o grupo A1 com A2 e D, entre os grupos A2 e C, entre B1 com C e D, entre B2 com D e entre C e D. Na avaliação com 30 dias as médias mais elevadas ocorreram nos grupos: A1 (3,00), B2 (2,40) e B2 (2,20) e as menos elevadas nos grupos A2 (1,00) e D (1,40) e as diferenças significativas ocorreram entre os pares: A1 com A2, C e D, entre A2 com B1 e B2 e entre B2 com D. Na avaliação com 45 dias as médias mais elevadas ocorreram nos grupos A1 (2,80), B2 (2,80), C (2,40) e B1 (2,20) e a menos elevada ocorreu no grupo A2 (0,80), sendo observadas diferenças significativas entre cada um dos grupos A2 e D com cada um dos outros 4 grupos.

Da Tabela 12, encontrada no Anexo H, que trata da avaliação do grau da reabsorção óssea segundo o grupo e tempo de avaliação com exceção de um animal com grau de reabsorção óssea na avaliação com 15 no grau moderado do grupo B1 e com 45 dias um com grau leve no grupo A2 e um com grau moderado no grupo D todas as demais avaliações foram ausentes e não se comprova diferença significativa entre as avaliações em cada grupo e nem entre os grupos em cada avaliação ( $p > 0,05$ ).

Da Tabela 13 (ver Anexo I) que trata da média e desvio padrão e mediana do grau da reabsorção óssea segundo o grupo e tempo de avaliação, com exceção da avaliação de: com 15 dias no grupo B1 com média de 0,40 no grau

da reabsorção óssea; com 45 dias nos grupos A2 com média de 0,20 e no grupo D com média 0,40 todas as demais médias foram nulas e não se comprova diferença significativa entre as avaliações em cada grupo e nem entre os grupos em cada avaliação ( $p > 0,05$ ).

Já na Tabela 14 (ver Anexo J), que trata da avaliação do grau da fratura óssea segundo o grupo e tempo de avaliação, com exceção de um animal do grupo D com grau de fratura óssea completa na avaliação com 30 dias e com grau moderado na avaliação com 45 dias, em todas as demais avaliações foram ausentes e não se comprova diferença significativa entre as avaliações em cada grupo e nem entre os grupos em cada avaliação ( $p > 0,05$ ).

No Anexo K, encontra-se a Tabela 15, que trata da média e desvio padrão e mediana do grau da fratura óssea segundo o grupo e tempo de avaliação, com exceção do grupo D nas avaliações com 30 dias e com 40 dias que apresentaram médias de 0,60 e 0,40 respectivamente em todos os demais grupos e avaliações as médias do grau de fratura óssea foram nulas e não se comprova diferença significativa entre as avaliações em cada grupo e nem entre os grupos em cada avaliação ( $p > 0,05$ ).

#### 4.10.2 Avaliação estatística dos dados histomorfológicos

Nas Tabelas 16 a 27, que se encontram nos Anexos de L a W, são apresentados os resultados estatísticos detalhados dos exames histológicos relativos às variáveis: infiltrado inflamatório, atividade osteoblástica, neoformação óssea, reação de corpo estranho, área de fibrose e reação de granulação.

Da Tabela 16 (Anexo L) que trata da Avaliação do infiltrado inflamatório segundo o grupo e tempo de avaliação se destaca que: no grupo A1 todos os animais na avaliação com 15 dias tinham grau intenso, na avaliação com 30 dias tinham grau moderado e com 45 dias tinham grau leve; no grupo A2 e D todos os animais tinham grau leve na avaliação com 15 dias e grau intenso nas avaliações com 30 e com 45 dias; nos grupos B1 e C todos os animais tinham grau leve na avaliação com 15 dias e grau moderado nas avaliações com 30 e com 45 dias; no grupo B2 todos os animais na avaliação com 15 dias tinham grau moderado, na avaliação com 30 dias tinham grau leve e ausência na



avaliação com 45 dias. Diferenças significativas foram verificadas entre as avaliações em cada um dos grupos e entre os grupos em cada uma das avaliações.

No Anexo M tem-se a Tabela 17, que trata da média da avaliação do infiltrado inflamatório segundo o grupo e tempo de avaliação, é possível verificar que: as médias foram correspondentemente mais elevadas na avaliação com 15 dias do que nas outras duas avaliações; no grupo A1 e B2 as médias na avaliação com 30 dias foram correspondentemente mais elevadas do que as médias nas avaliações com 45 dias. Diferenças significativas entre as avaliações foram registradas em todos os grupos e através dos testes de comparações múltiplas pareadas se comprova diferença significativa entre cada um dos pares das três avaliações nos grupos A1, B2 e entre o tempo de 15 dias com cada um dos outros dois tempos em cada um dos demais grupos. Na avaliação com 15 dias se verifica médias iguais a 3,00 nos grupos A1, A2 e D e médias iguais a 2,00 nos outros grupos, sendo comprovadas diferenças significativas entre cada um dos grupos A1, A2 e D com cada um dos outros grupos; na avaliação com 30 dias a média foi mais elevada no grupo A1 (2,00) e valores iguais a 1,00 nos outros grupos, sendo observadas diferenças significativas entre o referido grupo com os demais; na avaliação com 45 dias a média foi 0,00 no grupo B2 e igual a 1,00 nos demais grupos, sendo observadas diferenças significativas do referido grupo com os demais.

Da Tabela 18 (ver Anexo N), que trata da avaliação da atividade osteoblástica segundo o grupo e tempo de avaliação é possível verificar que: no grupo A1 todos os animais tinham atividade osteoblástica intensa nas três avaliações; no grupo A2 todos os animais tinham atividade osteoblástica moderada nas três avaliações; nos grupos B1 e B2 todos os 5 animais atividade intensa nas avaliações com 15 dias e com 45 dias e atividade moderada na avaliação com 30 dias; nos grupos C e D os 5 animais tinham atividade moderada nas avaliações com 15 dias e com 30 dias e atividade intensa com 45 dias.

Foram registradas diferenças significativas entre os tempos de avaliação em cada um dos grupos B1, B2, C e D ( $p < 0,001$ ) e existe diferença significativa entre os grupos em cada tempo de avaliação ( $p < 0,001$ ).

Em relação à atividade osteoblástica a Tabela 19, contida no anexo O, mostra que: no grupo A1 as médias nas três avaliações foram iguais a 3,00 e no grupo A2 as médias nas três avaliações foram iguais a 2,00, não sendo comprovadas diferenças significativas entre as avaliações nos dois grupos citados; nos demais grupos se comprovam diferenças significativas entre as avaliações, sendo que nos grupos B1 e B2 as médias foram iguais a 2,00 nas avaliações com 15 dias e 45 dias e foram iguais a 2,00 na avaliação com 30 dias, sendo comprovadas diferenças entre a avaliação de 30 dias com cada uma das outras duas avaliações; foram registradas diferenças significativas entre as avaliações nos grupos C e D e nestes grupos as médias foram iguais a 2,00 nas duas primeiras avaliações e iguais a 3,00 na avaliação com 45 dias, sendo comprovadas diferenças entre 45 dias com cada uma das outras avaliações. Entre os grupos se comprova diferenças significativas os grupos cada um dos grupos: A1, B1, B2 com cada um dos grupos A2, C e D na avaliação com 15 dias. Na avaliação com 30 dias se verifica diferença significativa do grupo A1 com cada um dos outros grupos e na avaliação com 45 dias se comprova diferença significativa do grupo A2 com cada um dos outros grupos.

Em relação à neoformação óssea, na qual os dados estatísticos estão descritos na Tabela 20 (Anexo P), é possível verificar que: no grupo A1 todos os 5 animais tinham neoformação óssea intensa na avaliação com 15 dias e atividade completa nas avaliações com 30 dias e com 45 dias; no grupo A2 os 5 animais tinham grau moderado na avaliação com 15 dias e grau intenso nas avaliações com 30 dias e com 45 dias; no grupo B1 todos os 5 animais tinham grau leve na avaliação com 15 dias e atividade completa nas avaliações com 30 dias e com 45 dias; no grupo B2 e C os 5 animais tinham grau moderado na avaliação com 15 dias e grau completo na avaliação com 30 dias e com 45 dias. No grupo D os 5 animais tinham grau leve na avaliação com 15 dias e grau intenso nas avaliações com 30 e com 45 dias. Foram registradas diferenças significativas entre os tempos de avaliação em cada um dos grupos e entre os grupos em cada uma das avaliações.

Dos resultados contidos na Tabela 21 (ver Anexo Q), que trata da média da avaliação da neoformação óssea se destaca que: em cada um dos grupos as médias foram correspondentemente menos elevadas na avaliação com 15 dias e foram iguais entre as avaliações com 30 dias e com 45 dias, sendo

comprovadas diferenças significativas entre a avaliação de 15 dias com as outras duas avaliações em cada um dos outros grupos. Entre os grupos se comprova diferenças significativas o grupo A1 com cada um dos outros grupos; entre cada um dos grupos A2, B2 e C com cada um dos grupos B1 e D na avaliação com 15 dias. Nas avaliações de 30 e 45 dias se comprova diferenças significativas entre cada um dos grupos A1 e D com cada um dos outros 4 grupos.

Em relação à reação de corpo estranho (Tabela 22 contida no Anexo R) se destaca que: no grupo A1 os 5 animais tinham reação ausente nas avaliações com 15 dias e com 45 dias e grau leve na avaliação com 30 dias; no grupo A2, B2, C e D todos os 5 animais tinham ausência de reação em cada uma das avaliações; no grupo B1 todos os 5 animais tinham ausência de reação nas avaliações com 15 dias e com 30 dias e grau leve na avaliação com 45 dias.

Da Tabela 23 (ver Anexo S) que trata da média da avaliação da reação de corpo estranho ainda destaca-se que: com exceção do grupo A1 na avaliação com 30 dias e no grupo B1 na avaliação com 45 dias que tiveram médias de corpo estranho iguais a 1,00 as demais médias foram todas iguais a 0,00. As únicas diferenças significativas entre os dias de avaliação ocorreram nos grupos A1 e B1, com diferenças significativas entre 30 dias com cada uma das outras avaliações no grupo A1 e entre 45 dias com 15 e 30 no grupo B1. Não foi registrada diferença significativa entre os grupos na avaliação com 15 dias; na avaliação com 30 dias se comprova diferença do grupo A1 com cada um dos outros grupos e na avaliação com 45 dias entre B1 com cada um dos outros grupos.

Em relação à área de fibrose a Tabela 24 (Anexo T) mostra que: no grupo A1 todos os 5 animais tinham área de fibrose moderada na avaliações com 15 e 30 dias e ausência na avaliação com 45 dias; no grupo A2 todos 5 tinham ausência de área de fibrose na avaliação com 15 dias e grau leve nas avaliações com 30 dias e com 45 dias; no grupo B1 todos os 5 animais tinham grau leve avaliação com 15 dias e ausência nas outras duas avaliações; no grupo B2 os 5 animais tinham ausência nas avaliações com 15 e com 45 dias e grau moderado na avaliação com 30 dias; no grupo C todos os ratos tinham grau moderado nas três avaliações e no grupo D tinham grau moderado na avaliação com 15 dias e grau leve nas avaliações com 30 e 45 dias. Com exceção do grupo C em todos

os demais grupos de comprova diferenças significativas entre os tempos de avaliação e se comprova diferença significativa entre os grupos em todas as avaliações.

Dos resultados contidos na Tabela 25 (ver Anexo U), que trata da média área de fibrose se destaca que: o comportamento entre as avaliações foi diferente em cada um dos grupos; no grupo A1 as médias foram iguais a 2,00 nas avaliações com 15 dias e com 30 dias e foi 0,00 na avaliação com 45 dias; no grupo A2 a média foi 0,00 na avaliação com 15 dias e foi igual a 1,00 nas outras duas avaliações e o contrário ocorreu no grupo B1 que teve média foi 1,00 na avaliação com 15 dias e iguais a 0,00 nas outras duas avaliações; no grupo C as médias foram iguais 1,00 em cada uma das avaliações; no grupo D a média foi 2,00 na avaliação com 15 dias e foi 1,00 nas outras duas avaliações.

Entre os tempos de avaliação com exceção do grupo C se comprova diferença significativa entre os tempos de avaliação e através dos testes de comparações múltiplas pareadas se comprova diferença entre 15 dias e os outros dois tempos nos grupos: A2, B1 e D; entre o tempo de 45 dias com cada um dos outros tempos no grupo A1; entre o tempo de 30 dias com cada um dos outros tempos no grupo B2.

Entre os grupos se comprova diferença significativa: com exceção de A1 e D, A2 e B2 e de B1 e C entre todos os demais pares na avaliação com 15 dias; com exceção dos grupos: A1 com B2, A2 com C e D entre todos os demais pares na avaliação com 30 dias. Diferença dos grupos A1, B1 e B2 de A2, C e D na avaliação com 45 dias.

Com relação à avaliação da reação de granulação (Tabela 26 contida no Anexo V) destaca-se que: nos grupos A1, A2 e C os 5 animais tinham grau da reação moderada na avaliação com 15 dias, grau leve com 30 dias e ausência na avaliação com 45 dias; no grupo B1 os animais tinham grau leve na avaliação com 15 dias e ausência nas avaliações com 30 e 45 dias; no grupo B2 e D os animais tinham grau leve nas avaliações com 15 e 30 dias e ausência na avaliação com 45 dias. Diferenças significativas foram registradas entre os tempos de avaliação em cada um dos grupos e com exceção do tempo de avaliação com 45 dias se comprova diferença significativa entre os grupos.

Na Tabela 27 contida no Anexo W, que trata da média da reação de granulação, destaca-se que: as médias foram 2,00 na avaliação com 15 dias,

1,00 na avaliação com 30 dias e com 45 dias na avaliação com 45 dias nos grupos A1, A2 e C. A média foi 1,00 na avaliação com 15 dias e foi 0,00 nas avaliações com 30 e com 45 dias no grupo B1; As médias foram iguais a 1,00 nas avaliações de 15 dias e 30 dias e foi igual a 0,00 nos grupos B2 e D. Entre os tempos de avaliação se comprova diferenças entre os três tempos nos grupos: A1, A2 e C; entre 15 dias com cada um dos outros tempos no grupo B1; entre 45 dias com cada um dos outros tempos nos grupos B2 e D.

Foram verificadas diferenças entre os grupos nos tempos de 15 dias e 30 dias, sendo observadas diferenças dos grupos A1, A2 e C com B1, B2 e D na avaliação com 15 dias; entre o grupo B1 com cada um dos outros grupos na avaliação com 30 dias.

Finalmente, após esta detalhada análise estatística é importante salientar que os resultados estatísticos encontrados nesta tese corroboram com os resultados estatísticos observados por Vital (2005) quando também avaliou a influência da HAp na osseocondução em defeitos induzidos cirurgicamente em tíbias de coelho.

## 5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos têm-se as seguintes conclusões:

- Foi possível sintetizar hidroxiapatita (HAp) pelo método de precipitação com sucesso, uma vez que os DRX comprovam a obtenção desta como fase única.
- Conseguiu-se com sucesso a obter dos cimentos endodônticos composto de MTA/HAp, com incorporação de 1, 3 e 5% em massa de HAp ao MTA, comprovado pela presença das fases dos precursores (MTA e HAp) nos difratograma dos cimentos C3, C4 e C5.
- Todos os ensaios de caracterização (DRX, EDX, FTIR, MEV, consistência, tempo de endurecimento e radiopacidade) foram realizados com sucesso para todos os materiais estudados (C1, C2, C3, C4 e C5).
- Por meio dos ensaios *in vivo* (Radiológico e Histomorfológico) comprovou-se efetivamente que a hidroxiapatita possui atividade osteocondutora e que esta foi adicionado ao MTA, uma vez que os cimentos C3, C4 e C5, apresentaram maior neoformação óssea do que o cimento C1 (MTA).
- Através das análises radiográfica, histológica e estatística, verificou-se que a concentração de 5% de hidroxiapatita forneceu a melhor propriedade de osteocondução ao MTA, pois dentre as composições estudadas (1, 3 e 5%), esta foi a que apresentou melhores resultados de neoformação óssea.
- Assim para utilização na Saúde Pública através dos tratamentos odontológicos conservadores como capeamento pulpar direto e indireto, pulpotomia e cirurgias pararendodônticas, indica-se a HAp como o melhor material para a indução de pontes dentinárias.
- No caso de selamentos de infiltração nos tratamentos endodônticos, o MTA/HAp5% é o material mais indicado pois este apresentará a função seladora do MTA, juntamente com a indução de neoformação óssea da HAp, diminuindo o tempo de preservação.

## SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Testar os materiais C2, C3, C4 e C5 em ensaios *in vivo* com humanos, uma vez que o C1 já tem sua utilização comprovada sendo este um material já comercializado.
- Estudar uma forma de melhorar a consistência do cimento C2 para que o mesmo possa ser usado em endodontia.
- Investigar a capacidade de selamento marginal do cimento C2.
- Dar continuidade à investigação da adição da propriedade osteocondutora da HAp ao MTA, porém, com substituição de parte da massa percentual do MTA pela HAp, tais como as formulações: 70%MTA/30%HAp, 60%MTA/40%HAp e 50%MTA/50%HAp.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGELUS® Ciência e Tecnologia – Artigos e Publicações. Disponível em: [http://www.angelus.ind.br/pt/cimentos\\_endodonticos/mta/ArtigosPublicacoes.asp](http://www.angelus.ind.br/pt/cimentos_endodonticos/mta/ArtigosPublicacoes.asp). Acesso em: 10/11/2012.

ALONSO, L. M. Avaliação de cimentos ósseos de fosfato de cálcio com adições de aluminato e silicato de cálcio. 175f. Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais da Universidade federal do Rio Grande do Sul, 2011.

ALTMAN, D. G. “Practical Statistics for Medical Research”. Chapman and Hall, Great Britain, London, 611 pg, 1991.

AMER Z.; ALANEZI; QIANG ZHU; YU-HSIUNG WANG; KAMRAN E. SAFAVI; JIM J. Effect of selected accelerants on setting time and biocompatibility of Mineral Trioxide Aggregate (MTA). Oral Surgery Oral Medical Oral Pathology Oral Radiology Endodontology, 111, p.122-127, 2011.

AN, Y. H.; DRAUGHN, R. A. Mechanical Testing of Bone and the Bone-Implant Interface. CRC Press LLC, 2000.

ARAGONES, A. Hidroxiapatita microgranular em pulpotomias de molares decíduos de humanos: avaliação clínica e radiográfica. 105f. Tese de doutorado apresentada a Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, 2007.

ARAÚJO, I. M. P.; SARACENI, C. H. C.; SANTOS JÚNIOR, A.; DUARTE, L. F. M.; BARBOSA, J. Avaliação histológica da dentina de dentes de ratos submetida à ação da BMP – proteína morfogenética associada à hidroxiapatita e colágeno. Revista Institucional de Ciências da Saúde, 25, p.257-261, 2007.



AZEVEDO, V.V.C.; CHAVES S. A.; BEZERRA D. C.; LIA FOOK M. V.; COSTA A. C. F. M.; Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. Revista Eletrônica de Materiais e Processos, 2 (3), p.27-34, 2007.

BALLAL, N. V.; KUNDABALA, M.; BHAT, K. S.; A comparative evaluation of postobturation apical seal following intracanal irrigation with maleic acid and EDTA: a dye leakage under vacuum study. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology, 109 (3), p.126-130, 2010.

BARROS, C. M. B.; Avaliação do selamento apical em retrobturação através do MTA incorporado com diferentes veículos e materiais. 73f. Dissertação de mestrado apresentada a Universidade Potiguar, 2008.

BICALHO, S. M. C. M.; BORGES, A. P. B.; REZENDE, C. F. HAP-91<sup>®</sup> e COL.HAP-91<sup>®</sup> - casuísticas e estudos científicos. 356f. Propartner Gráfica e Editora Ltda, 4<sup>a</sup> edição, Sabará – MG, 2011.

BORGES, A. P. B. O efeito da hidroxiapatita sintética na regeneração óssea de defeito provocado experimentalmente no terço proximal na tíbia dos cães (Canis familiares): Estudo clínico-cirúrgico, radiológico e histológico por microscopia de luz e microscopia eletrônica de retrodispersão. **Tese de doutorado**, Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 1998.

BORON, W. F.; BOULPAEP, E. L. Medical Physiology. Saunders, 2003.

BORTOLUZZI E. A., BROON N. J., BRAMANTE C. M. Avaliação da capacidade seladora do MTA e cimento Portland com ou sem cloreto de cálcio em obturações retrógradas. Brazilian Oral Research, 18, p. 213, 2007.

BRAMANTE, C. M. Acidentes e complicações na abertura coronária. In: Acidentes e complicações no tratamento endodôntico: soluções clínicas. São Paulo: Santos, Cap.3, p.19-55, 2003.

BURG, K. J. L.; PORTER, S.; KELLAM, J. F. Biomaterial Developments for Bone Tissue Engineering. *Biomaterials*, 21, p.2347-2359, 2000.

CAMARGO, N. H. A.; SOARES, C.; GEMELLI, E. Síntese e Caracterização de Biocimentos Nanoestruturados para Aplicações Cirúrgicas Ortopédicas-Odontológicas. In: 50º Congresso Brasileiro de Cerâmica, p.1-14, 2006.

CAMILLERI J.; Hydration mechanisms of mineral trioxide aggregate. *Journal International Endodontology*, 40, p.462, 2007.

CARVALHO, P. S. P.; BASSI, A. P. F.; VIOLIN, L. A. Revisão e proposta de nomenclatura para os biomateriais. *Implant news*, 1 (3), p.255-259, 2004.

CASTRO-RAUCCI, L. M. S.; OLIVEIRA, I. R.; TEIXEIRA, L. N.; ROSA, A. L.; OLIVEIRA, P. T.; JACOBOVITZ, M. Effects of a Novel Calcium Aluminate Cement on the Early Events of the Progression of Osteogenic Cell Cultures. *Brazilian Dental Journal*, 22 (2), p.99-104, 2011.

CHARRIÈRE, E.; LEMAITRE, J.; ZYSSET, P.H.; Hydroxyapatite Cement Scaffolds with Controlled Macroporosity: Fabrication Protocol and Mechanical Properties. *Biomaterials*, 24, p.809-817, 2003.

COELHO, A.; CANTA, J. P.; MARQUES, P. Pulpotomia de Dentes Decíduos com Mineral Trióxido Agregado: Caso Clínico. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*, 46 (2), p. 101-106, 2005.

COLEMAN, N. J.; NICHOLSON, J. W.; AWOSANYA, K. A preliminary investigation of the in vitro bioactivity of white Portland cement. *Cement and Concrete Research*, 37, p.1518–1523, 2007.

CONOVER, W. J. "Practical Nonparametric Statistics". Second Edition, Editora John Wiley & Sons - New York, Texas Tech University, 495 pg, 1980.

COSTA, A. C. F. M.; LIMA, M. G.; LIMA, L. H. M. A.; CORDEIRO, V. V.; VIANA, K. M. S.; SOUZA, V.; LIRA, H. L.; Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações. REMAP, 4 (3), p. 29-38, 2009.

COSTA, C. A. S.; SOUZA, P. P. C.; Testes de Citotoxicidade em Cultura de Célula. In: ESTRELA, C. Metodologia Científica. 2.ed. Artes Médicas. São Paulo. p.213-230, 2005.

DEDOURKOVÁ, T.; ZELENKA, J.; ZELENKOVÁ, M.; BENES, L.; SVOBODA, L.; Synthesis of sphere-like nanoparticles of hydroxyapatite. Procedia Engineering, 42, p. 1991-1996, 2012.

DELFINO, C. S.; RIBEIRO, C.; VIEIRA, G. F.; BRESSIANI, A. H. A.; TURBINO, M. L. Uso de novos materiais para o capeamento pulpar (hidroxiapatita - HAp e fosfato tricálcico -  $\beta$ -TCP). Cerâmica, 56, p. 381-388, 2010.

DESAI, S.; CHANDLER, N. Calcium Hydroxide–Based Root Canal Sealers: A Review. Journal of Endodontics, 35 (4), p.475-480, 2009.

DINOPOULOS, H.; DIMITRIOU, R.; GIANNOUDIS P. V.; Bone graft substitutes: What are the options? The Surgeon, 10(4), p. 230-239, 2012.

DÓREA NETO, F. A.; PADILHA FILHO, J. G.; SANTOS, L. A.; ORIÁ, A. P.; CANOLA, J. C.; STEFANES, S. A.; REGONATO, E. The use of hydroxyapatite for arthrodesis in dogs and cats: a clinical study. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 59 (4), p.932-938, 2007.

DOURADO, E. R. Preparação e caracterização de hidroxiapatita nanoestruturada dopada com estrôncio. 128f. Dissertação de mestrado apresentada ao Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas, 2006.

DUARTE, C. A.; Cirurgia periodontal – pré-protética e estética. 2.ed. São Paulo: Santos, 2003.

DUARTE, T. S.; BORGES, A. P. B.; LAVOR, M. S. L.; FILGUEIRAS, R.; TSIOMIS, A. C.; OLIVEIRA, F. L.; PONTES, K. C. S. Osteointegration of synthetic hydroxyapatite in alveolar process of mandible in dogs: histological aspects. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 58 (5), p.849-853, 2006.

E'GUES, M. A. M. Compósito de colágeno com silicato e hidroxiapatita como material para endodontia. 97f. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia da Escola de Engenharia de São Carlos/ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Instituto de Química da São Carlos da Universidade de São Paulo, 2005.

E'GUES, M. A. M.; PAULA, M.; GOISSIS, G. Compósito de colágeno com silicato e hidroxiapatita como material para endodontia: preparação e caracterização. *Revista Odonto Ciência*, 23 (2), p.134-140, 2008.

ESTIMA, D. C. C.; VASCONCELOS, M. M. V. B.; COUTO, G. B.L.; FURTUNATO, A. C.; MACIEL, Q.; BOTELHO, K. V. G.; MELO, M. M. D. C.; Avaliação Clínica e Radiográfica do emprego do Mineral Trióxido Agregado (MTA) em dentes decíduos pulpotomizados. *Odontologia Clínica e Científica*, 8 (2), p.157-162, 2009.

EPPLÉ, M.; TADIC, D.; Mechanically stable implants of synthetic bone mineral by cold isostatic pressing. *Biomaterials*, 24, p.4565–4571, 2003.

FONSECA, K. B.; PEREIRA, H. H.; SILVA, S. N. Avaliação de falhas em implantes metálicos coxo-femoral e joelho retirados de pacientes. *Revista Matéria*, 10 (3), p. 472-480, 2005.

FOOK, M. V. L. Desenvolvimento de técnica de deposição de hidroxiapatita pelo método biomimético na superfície polietileno de ultra-alto peso molecular para aplicação como biomaterial. 128f. Tese de doutorado apresentada a Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara, 2005.

FREDERICO, P. G.; LANZA, C. R. M.; ARANHA, A. M. F.; HEBLING, J.; COSTA, C. A. S. Análise da citotoxicidade do agregado de trióxido mineral (MTA-Branco) em cultura de odontoblastos. Influência dos tempos de presa e do armazenamento do material em meio líquido. Revista de Odontologia da UNESP, 35 (4), p.319-326, 2006.

GANDOLFI, M. G.; CIAPETTIB, G.; TADDEIC, P.; PERUTB, F.; TINTI, A.; CARDOSO, M. V.; MEERBEEKD, B. V.; PRATI, C. Apatite formation on bioactive calcium-silicate cements for dentistry affects surface topography and human marrow stromal cells proliferation. Dental Materials, 26, p.974-992, 2010.

GARCÍA, A. G. Avaliação da biocompatibilidade do compósito: biocerâmica/ácido poli (lático-co-glicólico) em fibroblastos e macrófagos e da resposta pulpar após capeamento direto. 96f. Tese de doutorado apresentada ao Curso de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.

GOMES, A. C. A.; DOURADO, A. T.; DIAS, E. O. S.; ALBUQUERQUE, D. S. Therapeutical procedure in teeth with refractory lesion to endodontic conventional and cirurgical treatment – a case report. Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial, 3 (1), p.23-29, 2003.

GOMES-FILHO, J. E.; COSTA, M. T. M.; CINTRA, L. T. A.; LODI, C. S.; DUARTE, P. C. T.; OKAMOTO, R.; BERNABÉ, P. F. E.; NERY, M. J.; CANNON, M. Evaluation of alveolar socket response to Angelus MTA and experimental light-cure MTA. Basic Research-Technology, 110 (5), p.93-97, nov. 2010.

GONÇALVES, S. B.; BRAMANTE C. M. Avaliação *in vitro* da capacidade seladora do Super-EBA e do MTA em quatro técnicas de obturação retrógrada. Revista Faculdade Odontologia de Bauru, 10 (3), p.170, 2002.

GRANJEIRO, J. M.; ROSSI, A. M.; MELO, A.; Classificação dos Biomateriais. Portal Biomateriais. 2009. Disponível em <http://www.biomateriais.com.br>  
Acesso em: 12/01/2010.

GUEDES, C. C.; SANTOS, E. M.; FERNANDES, K. P. S.; MARTINS, M. D.; BUSSADORI, S. K. Direct pulp capping in immature first molar using mineral trioxide aggregate (MTA). Revista Institucional Ciência e Saúde, 24 (4), p.331-335, 2006.

HABRAKEN, W. J. E. M.; LIAO, H. B.; ZHANG, Z.; WOLKE, J. G. C.; GRIJPMA, D. W.; MIKOS, A. G.; FEIJEN, J.; JANSEN, J. A.; In vivo degradation of calcium phosphate cement incorporated into biodegradable microspheres. Acta Biomaterialia, 6 (6), p.2200-2211, 2010.

HAMMOUDA, I. M. Reinforcement of conventional glass restorative material with short glass fibers. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 2, (1), p.73-81, 2009.

HEWARD, S; SEDGLEY, C.M. Effects of intracanal mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide during four weeks on pH changes in simulated root surface Resorption defects: an in vitro study using matched pairs of human teeth. Basic Research-Biology, 37 (1), p.40-44, Jan. 2011.

HOLLAND, R.; SOUZA, V.; DELGADO, R. J. M.; MURATA, S. S. Agregado de trióxido mineral (MTA): composição, mecanismo de ação, comportamento biológico e emprego clínico. Revista Ciências Odontológicas, 5, p. 7-21, 2002.

HOLLAND, R.; MAZUQUELI, L.; DE SOUZA, V.; MURATA, S. S.; DEZAN JUNIOR, E.; SUZUKY, P. Influence of the type of vehicle and limit of obturation on apical and periapical tissue response in dogs' teeth after root canal filling with mineral trioxide aggregate. Journal Endodontology, 33 (6), p.693-697, 2007.

HWANG, Y. C; KIM, D. H; HWANG, I. N; SONG, S. J; PARK, Y. J; KOB, J. T; SON, H. H; OB, W. M. Chemical constitution, physical properties, and

biocompatibility of experimentally manufactured Portland cement. *Basic Research-Technology*, 37 (1), p.58-62, 2010.

KAO, C. T.; SHIE, M. Y.; HUANG, T. H.; DING, S. J.; Properties of an Accelerated Mineral Trioxide Aggregate–like Root-end Filling Material *Journal of Endodontics*, 35 (2), p. 239-242, 2009.

KENNY, S. M.; BUGGY, M. Bone cements and fillers: A review. *Journal of Materials Science: Materilas in Medicine*, 14 (11), p.923-938, 2003.

KIM, C. Y.; LIM, H. B. Hardening and hydroxyapatite formation of bioactive glass and glass-ceramic cement. *Key Engineering Mater*, 254, p.305-308, 2004.

LACERDA, K. A.; LAMEIRAS, F. S.; SILVA, V. V. Síntese e caracterização de matrizes porosas de hidroxiapatita para aplicação como fontes radioativas em braquiterapia. *Revista Escola de Minas*, 59 (2), p. 217-223, 2006.

LEONARDO, M. R.; *Endodontia: tratamento de canais radiculares: princípios técnicos e biológicos*. São Paulo: Artes Médicas, 2005. Reimpressão 2008.

LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. *Tratado de periodontia clínica e implantologia oral*, 4. edição, São Paulo, Guanabara Koogan, 2005.

MAGALHÃES, A. C. F. G.; WERNECK, E. C. Internal and external root reabsorption in orthodontic treated patient: case report. *Ortodontia*, 41 (3), p.195-198, 2008.

MAIA, M.; KLEIN, E. S.; MONJE, T. V.; PAGLIOSA, C. Reconstrução da estrutura facial por biomateriais: revisão de literatura. *Revista Brasileira de Cirurgia Plástica*, 25 (3), p.566-572, 2010.

MANGIN, C.; YESILSOY, C.; NISSAN, R.; STEVENS, R. The Comparative Sealing Ability of Hydroxyapatite Cement, Mineral Trioxide Aggregate, and

Super Ethoxybenzoic Acid as Root-End Filling Materials. *Journal of Endodontics*, 29 (4), p. 261-264, 2003.

MARION, J. J. C.; Processo de reparo de dentes de cães após biopulpectomia e obturaçãodos canais radiculares com os cimentos Sealapex<sup>TM</sup> ou MTA manipulado com propilenoglicol, associados ao efeito do emprego ou não de um curativo de corcorticosteróide-antibiótico.379f. Dissertação de Mestrado apresentada a Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Marília – UNIMAR, 2008.

MARTINEZ, M. M.; BORGES, A. P. B.; POMPERMAYER, L. G.; CARLO, E. C.; VILELA, L. M.; RATES, D. M.; MORATO, G. O.; ELEOTÉRIO, R. B.; BICALHO, S. M. C. M. Clinical-radiographic osseointegration of hydroxyapatite-lignin composite between metallic implant and bone tissue in rabbit. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61 (4), p.835-843, 2009.

MCNAMARA, R. P.; HENRY, M. A.; SCHINDLER, W. G.; HARGREAVES, K. M. Biocompatibility of Accelerated Mineral Trioxide Aggregate in a Rat Model. *Journal of Endodontics*, 36 (11), p.1851-1855, 2010.

MENEZES, R.; BRAMANTE, C. M.; GARCIA, R. B.; LETRA, A.; CARVALHO, V. G. G.; CARNEIRO, E.; BRUNINI, S.; OLIVEIRA, R. C.; CANOVA, G. C.; MORAES, F. G. Microscopic analysis of dog dental pulp after pulpotomy and pulp protection with mineral trioxide aggregate and white Portland cement. *Journal Applied Oral Science*, 12 (2), p.104-107, 2004.

MORAES, P.C.; PADILHA FILHO, J. G.; CANOLA, J. C.; SANTOS, L. A.; MACORIS, D. G.; ALESSI, A.C.; CASTRO, M. B.; DÓRIA NETO, F. A. Biocompatibilidade do cimento de fosfato de cálcio implantado no rádio de coelhos. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 19 (4), p.351-359, 2004.

MOREIRA, A. S. B.; PASTORELI, M. T.; DAMASCENO, L. H. F.; DEFINO, H. L. A. Influence od dimensions of hydroxiapatite granules upon bone integration: an experimental study. *Acta Ortopédica Brasileira*, 11, (4), p. 240-250, 2003.



MOTA, C. C. B. O.; BRASIL, C. M. V.; CARVALHO, N. R.; BEATRICE, L. C.; TEIXEIRA, H. M.; NASCIMENTO, A. B. L.; SILVA, C. H. V. Propriedades e aspectos biológicos do agregado trióxido mineral: revisão da literatura. Revista de Odontologia da UNESP, 39 (1), p. 49-54, 2010.

NAGASSE, Y.; YAMAZATO, C.; OLIVEIRA, F. M.; RIBEIRO, I.; JUNIOR, J. O. C. B.; KUSABARA, R. Avaliação retrospectiva de artrodese cervical com enxerto autólogo versus hidroxiapatita. Coluna/Columna, 9 (4), p.440-444, 2010.

NETO, F. A. D. Avaliação da hidroxiapatita em artrodeses experimentais e em ensaio clínico. 75f. Dissertação de mestrado apresentada ao Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Campus de Jaboticabal UNESP. Jaboticabal/SP, 2003.

NETO, F. A. D. Avaliação do cimento de alfa-fosfato tricálcico em artrodeses tarsocrurais experimentais em cães. 83f. Tese de doutorado apresentada ao Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias do Campus de Jaboticabal UNESP. Jaboticabal/SP, 2007.

NETO, J. S. R.; Hidroxiapatita sintética nanoestruturada e esmalte dental aquecidos e irradiados por laser de Er,Cr:YSGG. Caracterização por FTIR e por DRX. 120f. Dissertação apresentada ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares da Universidade de São Paulo. 2009.

NIE, H.; KIM, J.; FU, S. Y.; MAO, J.J.; Biomaterials Selection for Dental Pulp Regeneration. Comprehensive Biomaterials, 5, p.245-254, 2011.

OKABE, T.; ELVEBAK, B.; CARRASCO, L.; FERRACANE, J. L.; KEANINI, R. G.; NAKAJIMA, H. Mercury release from dental amalgams into continuously replenished liquids. Dental Materials, 19, p.38-45, 2003.

OLIVEIRA, A. A. R.; DE OLIVEIRA, J. E.; ORÉFICE, R. L.; MANSUR, H. S.; PEREIRA, M. M. Avaliação das Propriedades Mecânicas de Espumas Híbridas de Vidro Bioativo/Álcool Polivinílico para Aplicação em Engenharia de Tecidos. Revista Matéria, 12, p.140-149, 2007a.

OLIVEIRA, M. G.; XAVIER, C. B.; DEMARCO, F. F.; PINHEIRO, A. L. B.; COSTA, A. T.; POZZA, D. H. Comparative chemical study of MTA and portland cements. Brazilian Dental Journal, 18 (1), p.3-7, 2007b.

OLIVEIRA, S. V. Caracterização Química e Morfológica dos Fosfatos de Cálcio - CPP, HAp e TCP. 60p. Dissertação de Mestrado em Ciências Engenheiras de Materiais). Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Federal de Campina Grande, 2009a.

OLIVEIRA, T. C. Avaliação histológica do cimento de fosfato de cálcio (CFC) reforçado por fibras implantado supra-corticalmente em fêmur de ratos. 52f. Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2009b.

OLIVEIRA, L. S. A. F.; OLIVEIRA, C. S.; MACHADO, A. P. L.; ROSA, F. P. Biomaterials for bone regeneration – Methods of analyses and future perspectives. Revista de Ciências Médicas e Biológicas, 9 (1), p.37-44, 2010.

OPDAM, N. J.; BRONKHORST, E. M.; ROETERS, J. M.; LOOMAS, B. A. C. A retrospective clinical study on longevity of posterior composite and amalgam restorations. Dental Materials, 14, p. 2-8, 2006.

ORSO, V. A.; FILHO, M. S. Parendodontic Surgery: when and how to do. Revista da Faculdade de Odontologia de Porto Alegre, 47 (1), p.20-23, 2006.

PARADELLA, T. C. Glass-ionomer cements in modern dentistry. Revista de Odontologia da UNESP, 33 (4), p.157-61, 2004.

PARIROKH, M.; TORABINEJAD, M. Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review—Part I: Chemical, Physical, and Antibacterial Properties. *Journal of Endodontics*, 36 (1), p.16-27, 2010.

PÉCORA, J. D.; SOUSA NETO, M. D. Testes físico-químicos de materiais odontológicos. In: ESTRELA, C. *Metodologia científica* 2.ed. Artes Médicas. São Paulo. p. 343-372, 2005.

PEÑA, J.; VALLET-REGI, M. Hydroxyapatite, tricalcium phosphate and biphasic materials prepared by a liquid mix technique. *Journal of the European Ceramic Society*, 23, p.1687-1696, 2003.

PROPHET, E. B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J. B.; SOBIN L.H.; *Laboratory Methods in Histotechnology*. Armed Forces Institut of Pathology, Washington D.C. p. 278, 1992.

QUEIROZ, V. A. O. Uso do cimento ionômero de vidro na prática odontológica. 109f. Dissertação de mestrado apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, 2003.

REYES-CARMONA, J. F.; SANTOS, A. R. S.; FIGUEIREDO, C. P.; FELIPPE, M. S.; FELIPPE, W. T.; CORDEIRO, M. M. In Vivo Host Interactions with Mineral Trioxide Aggregate and Calcium Hydroxide: Inflammatory Molecular Signaling Assessment. *Journal Endodontics*, 37 (9), p.1225-1235, 2011.

RIBEIRO, C. M. B.; LOPES, M. W. F.; FARIAS, A. B. L.; CABRAL, B. L. A. L.; GUERRA, C. M. F. Cimentação em prótese: procedimentos convencionais e adesivos. *International Journal of Dentistry*, 6 (2), p.58-62, 2007.

RIGO, E. C. S.; GEHRKE, S. A.; CARBONARI, M. Síntese e caracterização de hidroxiapatita obtida pelo método da precipitação. *Revista Dental Press Periodontia Implantol*, 1 (3), p. 39-50, 2007.

ROBERTS, H. W.; TOTHB, J. M.; BERZINSC, D. W.; CHARLTOND, D. G. Mineral trioxide aggregate material use in endodontic treatment: A review of the literature. *Dental Materials*, 24, 149–164, 2008.

RUIZ, P. A.; SOUZA, A. H. F.; AMORIM, R. F. B.; CARVALHO, A. Agregado de trióxido mineral (MTA): uma nova perspectiva em endodontia. *Revista Brasileira de Odontologia*, 60 (1), p.33-55, 2003.

SAERI, M. R.; AFSHAR, A.; GHORBANI, M.; EHSANI, N.; SORRELL, C. C. “The wet precipitation process of hydroxyapatite”. *Materials Letters*, v. 57, p. 4064–4069, 2003.

SAGHIRI, M. A.; LOTFI, M.; SAGHIRI, A. M.; VOSOUGHHOSSEINI, S.; FATEMI, A.; SHIEZADEH, V. Effect of pH on sealing ability of white mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *Journal of Endodontics*, 34, p.1226-1229, 2008.

SALES, G. C. F.; SANTOS, R. L.; MOTA, L. Q.; LIMA, G. G. C.; BARBOZA, R. P. S. Pulpotomy in young permanent tooth. *Odontologia Clínica Científica*, 2 (2), p.125-134, 2003.

SALLES, L. P.; GOMES-CORNÉLIO, A. L.; GUIMARÃES, F. C.; HERRERA, B. S.; BAO, S. N.; ROSSA-JUNIOR, C.; GUERREIRO-TANOMARU, J. M.; TANOMARU-FILHO M.; Mineral Trioxide Aggregate–based Endodontic Sealer Stimulates Hydroxyapatite Nucleation in Human Osteoblast-like Cell Culture. *Journal of Endodontics*, 38 (7), p.971-976, 2012.

SANTOS, A. D. Estudo de propriedades físicas e químicas de um novo cimento selador endodôntico. 68f. Dissertação de mestrado apresentada a Universidade Estadual Paulista. Ilha Solteira SP. 2004.

SANTOS, J. D. *Ceramics in Medicine. Business Briefing: Medical Device Manufacturing & Technology*, 2002.

SCHWARTZ-ARAD, D.; YAROM, N.; LUSTIG, J. P.; KAFFE, I. A retrospective radiographic study of root-end surgery with amalgam and intermediate restorative material. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology*, 96 (4), p.472-477, 2003.

SILVA, R. J.; QUEIROZ, M. S.; FRANÇA, T. R. T.; SILVA, C. H. V.; BEATRICE, L. C. S. Glass ionomer cements properties: a systematic Review. *Odontologia Clínica Científica*, 9 (2), p.125-129, 2010.

SÓ, M. V.; *Endodontia – Interfaces no contexto da Odontologia*. São Paulo: Editora SANTOS, 2007.

SOARES, C. Síntese e Caracterização de Biocimentos Nanoestruturados para Aplicações Biomédicas. 91f. Dissertação de Mestrado apresentada a Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC/Joinville, 2006.

SUMER, M.; MUGLALI, M.; BODRUMLU, E.; GUVENC, T. Reactions of Connective Tissue to Amalgam, Intermediate Restorative Material, Mineral Trioxide Aggregate, and Mineral Trioxide Aggregate Mixed With Chlorhexidine. *Journal of Endodontics*, 32 (11), p.1094-1096, 2006.

TORKITTIKUL, P.; CHAIPANICH, A. Optimization of calcium chloride content on bioactivity and mechanical properties of White Portland cement. *Materials Science & Engineering C*, 32 (2), p.282-289, 2012.

TORTORA, G. J.; DERRICKSON, B. H., S. R. *Introduction to Human Body*, 9th edition. E-Book: John Willey & Sons, 2012.

TSEHIS, I.; FAIVISHEVSKY, V.; KFIR, A.; ROSEN, E.; Outcome of Surgical Endodontic Treatment Performed by a Modern Technique: A Meta-analysis of Literature. *Journal of Endodontics*, 35 (11), p. 1505-1511, 2009.

VALLET-REGÍ, M.; GONZÁLEZ-CALBET, J. M. Calcium phosphates as substitution of bones tissues. Progress in Solid State Chemistry, 32, p. 1-31, 2004.

VIEIRA, I. M.; LOURO, R. L.; ATTA, M. T.; NAVARRO, M. F. L.; FRANCISCONI, P. A. S. The glass ionomer cement in dentistry. Revista Saúde.Com, 2 (1), p.75-84, 2006.

VITAL, C. C. Hidroxiapatita associada à lignina no preenchimento de falha óssea experimental na tíbia de coelhos. 57f. Tese de doutorado apresentada à Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, 2005.

VITAL, C. C.; BORGES, A. P. B.; FONSECA, C. C.; TSIOMIS, A. C.; CARVALHO, T. B.; FONTES, E. B.; SENA, M. P.; FÓFANO, G. Biocompatibilidade e comportamento de compósitos de hidroxiapatita em falha óssea na ulna de coelhos. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 58 (2), p.175-183, 2006.

VITAL, C. C.; BORGES, A. P. B.; FONSECA, C. C.; CAMACHO, B. G.; NEGREIROS, R. M. Hidroxiapatita associada à lignina no preenchimento de falha óssea experimental na tíbia de coelhos. Revista CERES, p. 114-123, jan/fev 2008.

YLI-URPO, H.; VALLITTU, P. K.; NARHI, T. O.; FORSBACK, A. P.; VAKIPARTA, M. Release of sílica, calcium, phosphorus and fluoride from glass ionomer cement containing bioactive glass. Journal of Biomaterials Applications, 19 (1), p.5-20, 2004.

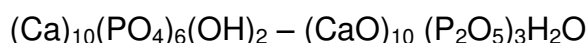
ZUOLO, M. L.; KHERNAKIAN, D.; MELLOJR, J.R.E.; CARVALHO, M.C.C. DE; FAGUNDES, M.I.R.C. Reintervenção em Endodontia, 1.ed .Editora Santos São Paulo, p.34, 2009.

## APÊNDICES

### APÊNDICE A1 – Cálculo do percentual teórico da hidroxiapatita

1ª Etapa:

Com base nos dados das massas molares de cada componente, calculou-se a massa molecular total da hidroxiapatita  $(Ca)_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ , como descrito abaixo.



$$CaO = 1 \text{ mol } (40,078+15,999) \text{ g/mol} = 56,077 \times 10 = 560,77 \text{ g/mol.}$$

$$P_2O_5 = 1 \text{ mol } (2 \times 30,9737 + 5 \times 15,999) \text{ g/mol} = 141,9424 \times 3 = 425,8272 \text{ g/mol}$$

$$H_2O = 1 \text{ mol } (2 \times 1,00794 + 15,999) \text{ g/mol} = 18,0148 \text{ g/mol}$$

$$M_T = 1004,612 \text{ g/mol}$$

2ª Etapa:

Calcula-se o valor percentual de cada óxido que compõem a composição da hidroxiapatita.

$$\%X_O = \frac{M_x}{M_t} \times 100$$

Temos que:

$\%X_O$  = percentual do composto óxido

$M_x$  = massa do composto óxido

$M_t$  = massa total da composição

Logo temos os seguintes resultados.

P/ CaO

$$\%X_O = \frac{560,77 \text{ g/mol}}{1004,612 \text{ g/mol}} \times 100 = 55,83\%$$

P/ P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

$$\%X_O = \frac{425,8272 \text{ g/mol}}{1004,612 \text{ g/mol}} \times 100 = 42,38\%$$

P/ H<sub>2</sub>O

$$\%X_O = \frac{18,0148 \text{ g/mol}}{1004,612 \text{ g/mol}} \times 100 = 1,79\%$$



## APÊNDICE A2 – Cálculo do percentual teórico de hidroxiapatita nos cimentos C3, C4 e C5

- Tomando-se como base que 0,28 g de MTA é o 100%

a) C3 – MTA/HAp1%:

$$0,2800 \text{ g} \rightarrow 100\%$$

$$x \text{ g} \rightarrow 1\%$$

$$x = \frac{0,2800 \text{ g} \times 1\%}{100\%}$$

$$x = 0,0028 \text{ g}$$

Assim, pesa-se 0,2800 g de MTA + 0,0028 g de HAp

b) C4 – MTA/HAp3%:

$$0,2800 \text{ g} \rightarrow 100\%$$

$$y \text{ g} \rightarrow 3\%$$

$$y = \frac{0,2800 \text{ g} \times 3\%}{100\%}$$

$$y = 0,0084 \text{ g}$$

Assim, pesa-se 0,2800 g de MTA + 0,0084 g de HAp

c) C5 – MTA/HAp5%:

$$0,2800 \text{ g} \rightarrow 100\%$$

$$z \text{ g} \rightarrow 5\%$$

$$z = \frac{0,28 \text{ g} \times 5\%}{100\%}$$

$$z = 0,0140 \text{ g}$$

Assim, pesa-se 0,2800 g de MTA + 0,0140 g de HAp

## ANEXO A – DESCRIÇÃO TÉCNICA DO MTA

## MTA

## PORTUGUÊS

## INTRODUÇÃO

MTA é um cimento endodôntico composto de óxidos minerais na forma de finas partículas hidrofílicas. É indicado em casos de perfuração radicular (canal e furca) iatrogénica ou por lesão de cárie, perfuração radicular por reabsorção interna, retroturação, proteção pulpar direta, pulpotomia, apicigênese e apicificação. Nessas indicações, se comparado com outros materiais, apresenta inúmeras vantagens:

- Tamanho das partículas que permite uma completa hidratação durante a espátulação e a obtenção das propriedades ideais do material.
- Baixa solubilidade e excelente capacidade de selamento marginal que impedem a migração de microrganismos e fluidos para o interior do canal radicular.
- Excelente vedamento biológico de perfurações radiculares (canal e furca) ao induzir a formação de cimento periradicular.
- Indução da formação de barreira dentinária quando aplicado sobre exposições pulpares.
- Utilização em meio úmido sem alteração das suas propriedades.

## COMPOSIÇÃO

- $\text{SiO}_2$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{SO}_3$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{Bi}_2\text{O}_3$ ,  $\text{MgO}$
- Resíduos insolúveis de sílica cristalina, óxido de cálcio e sulfatos de potássio e sódio.

## PROPIEDADES

- Tempo de presa: O MTA solidifica-se ao ser mantido em ambiente úmido após espátulação com água. O tempo de presa inicial é de aproximadamente 10 minutos e o final de 15 minutos.
- Alcalinidade: Após espátulação com água apresenta pH de valor 10 que em 3 horas se estabiliza em valor 12. Este pH alcalino se mantém por longo período e torna o meio impróprio para o crescimento bacteriano.
- Radiopacidade: Semelhante à da guta-percha. Mais radiopaco que dentina e osso.
- Resistência à compressão: 40 MPa após 24 horas e 65 MPa após 21 dias.

① *Cargas oclusais não incidem diretamente sobre os locais de aplicação.*

## INSTRUÇÕES PARA ESPATULAÇÃO E APLICAÇÃO

1. Esterilize a placa de vidro, a espátula e os instrumentos para inserção e condensação do MTA.
  2. Coloque o conteúdo de 1 sachê de MTA (ou de 1 pá dosadora) e 1 gota de água destilada sobre a placa de vidro.
  3. Espatule por 30 segundos até a mistura completa do pó com a água. O cimento obtido terá consistência arenosa, semelhante ao amálgama imediatamente após a trituração, porém mais úmido.
  4. Leve o MTA ao local desejado com um porta-amálgama ou outro instrumento adequado.
  5. Condense o MTA na cavidade preparada com instrumentos metálicos (condensadores de amálgama ou espátula 1) ou com a ponta de um cone de papel absorvente umedecido com água destilada.
- ① **IMPORTANTE:** Em procedimentos de longa duração ou quando o MTA não é utilizado logo após a espátulação, cubra-o com gaze úmida para evitar seu ressecamento. O MTA ressecado que volta à forma de pó não pode ser espatulado novamente e reutilizado.

## INDICAÇÕES

1. Tratamento de perfuração radicular (canal e furca) iatrogénica ou por lesão de cárie (figuras 1 e 2).
2. Tratamento via canal de perfuração radicular por reabsorção interna (figura 3).
3. Tratamento cirúrgico de perfuração radicular por reabsorção interna (figura 4).
4. Cirurgia parodontológica com retroturação (figura 5).
5. Proteção pulpar direta.
6. Pulpotomia (remoção da porção coronária afetada da polpa para preservar a vitalidade e a função da polpa radicular remanescente) (fig. 6).
7. Apicigênese (Indução do término da formação radicular em dentes permanentes vitais com polpa coronária inflamada).
8. Apicificação (Indução da formação de barreira apical de tecido duro em dentes permanentes jovens, com raízes incompletamente formadas e polpa necrótica) (figura 7).

## ADVERTÊNCIAS/CONTRA-INDICAÇÕES

- Use óculos de proteção, máscara e luvas ao manusear o MTA. Em caso de contato do produto com os olhos ou pele lave com água.
- Só abra o sachê ou frasco imediatamente antes do uso. O MTA é muito sensível à umidade.
- Não utilize o MTA para obturar canais, pois, sua plasticidade e escoamento são inadequados para essa finalidade. E, em caso de retratamento, sua remoção seria difícil.
- Não utilize o MTA em locais que estejam em contato com o sulco gengival, pois, ocorreria uma completa solubilização do cimento.
- Utilize o produto somente após controlar a fase aguda da doença endodôntica. A solidificação do MTA é alterada pelo pH ácido das lesões endodônticas e das suas áreas circundantes.
- Aplique o MTA com cuidado. Apesar de serem normalmente reabsorvidos, seus excessos podem dificultar a cicatrização.

① **ATENÇÃO:** As informações contidas nesta bula são embasadas em estudos científicos clínicos e laboratoriais. No entanto, o sucesso dos procedimentos com o MTA depende de um diagnóstico correto, da técnica operatória criteriosa, das condições do dente em tratamento e do quadro sistêmico do paciente. Este produto deve ser utilizado de acordo com as instruções desta bula.

## ESPAÑOL

## INTRODUCCIÓN

MTA es un cemento endodóntico compuesto de óxidos minerales en forma de partículas hidrofílicas. Está indicado en casos de perforación radicular (canal y furca) iatrogénica o por lesión de carie, perforación radicular por reabsorción interna, obturación retrógrada, protección pulpar directa, pulpotomía, apicigénesis y apicificación. En estas indicaciones, si se compara con otros materiales, presenta

numerosas ventajas:

- Tamaño de las partículas que permite una completa hidratación durante la espátulación y la obtención de las propiedades ideales del material.
- Baja solubilidad y excelente capacidad de sellado marginal que impiden la migración de microorganismos y fluidos hacia el interior del canal radicular.
- Excelente estancamiento biológico de perforaciones radiculares (canal y furca) al inducir la formación de cemento periradicular.
- Inducción de la formación de barrera dentinaria cuando se aplica sobre exposiciones pulpares.
- Utilización en medio húmedo sin alteración de sus propiedades.

## COMPOSICIÓN

- $\text{SiO}_2$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{SO}_3$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{Bi}_2\text{O}_3$ ,  $\text{MgO}$
- Residuos insolubles de sílice cristalina, óxido de calcio y sulfatos de potasio y sodio.

## PROPIEDADES

- Tiempo de demora del fraguado: El MTA se solidifica al mantenerse en ambiente húmedo después de espátulación con agua. El tiempo de cura inicial es de aproximadamente 10 minutos y el final de 15 minutos.
- Alcalinidad: Después de la espátulación con agua presenta pH de valor 10 que en 3 horas se estabiliza en valor 12. Este pH alcalino se mantiene por largo período y torna el medio impropio para el crecimiento bacteriano.
- Radiopacidad: Semelhante a la de la gutapercha. Más radiopaco que dentina y hueso.
- Resistencia a la compresión: 40 MPa después de 24 horas y 65 MPa después de 21 días.

① *Cargas oclusales no inciden directamente sobre los lugares de aplicación.*

## INSTRUCCIONES PARA ESPATULACIÓN Y APLICACIÓN

1. Esterilice la placa de vidrio, la espátula y los instrumentos para inserción y condensación del MTA.
  2. Coloque el contenido de 1 sobre de MTA (o una cucharra de polvo) y una 1 gota de agua destilada sobre la placa de vidrio.
  3. Espatular durante 30 segundos hasta que el polvo se mezcle completamente con el agua. El cemento obtenido tendrá consistencia arenosa, semejante a la amalgama después de la trituração, aunque más húmedo.
  4. Lleve el MTA al lugar deseado con un porta-amalgama u otro instrumento adecuado.
  5. Condense el MTA en la cavidad preparada con instrumentos metálicos (condensadores de amalgama o espátula 1) o con la punta de un cono de papel absorbente humedecido con agua destilada.
- ① **IMPORTANTE:** En procedimientos de larga duración o cuando el MTA no se utiliza luego después de la espátulación, cubralo con gasa húmeda para evitar que se reseque. El MTA ressecado que vuelve a la forma de polvo no se puede espatular nuevamente y reutilizarlo.

## INDICACIONES

1. Tratamiento de perforación radicular (canal y furca) iatrogénica o por lesión de carie (Figs. 1 y 2).
2. Tratamiento vía canal de perforación radicular por reabsorción interna (Fig. 3).
3. Tratamiento quirúrgico de perforación radicular por reabsorción interna (Fig. 4).
4. Cirugía parodontológica con obturación retrógrada (Fig. 5).
5. Protección pulpar directa.
6. Pulpotomía (remoción de la porción coronaria afectada de la pulpa para preservar la vitalidad y la función de la pulpa radicular remanente) (Fig. 6).
7. Apicigénesis (Inducción del término de la formación radicular en dientes permanentes vitales con pulpa coronaria inflamada).
8. Apicificación (Inducción de la formación de barrera apical de tejido duro en dientes permanentes jóvenes, con raíces formadas no completamente y pulpa necrótica) (Fig. 7).

## ADVERTENCIAS/CONTRA-INDICACIONES

- Use gafas de protección, máscara y guantes al manipular el MTA. En caso de contacto del producto con los ojos o con la piel lave con agua.
- Solo abra el sobre o frasco inmediatamente antes del uso. El MTA es muy sensible a la humedad.
- No utilice MTA para obturar canales, pues su plasticidad y escurrimiento son inadecuados para esta finalidad. Además en caso de nuevo tratamiento, su remoción sería difícil.
- No utilice el MTA en lugares que estén en contacto con el surco gingival, pues ocurriría una solubilización completa del cemento.
- Utilice el producto solamente después de controlar la fase aguda de la enfermedad endodóntica. La solidificación del MTA es alterada por el pH ácido de las lesiones endodónticas y de sus áreas circundantes.
- Aplique MTA con cuidado. A pesar de ser normalmente reabsorbido, el exceso puede dificultar la cicatrización.

① **ATENCIÓN:** Las informaciones contenidas en este folleto se basan en estudios científicos clínicos y de laboratorio. Sin embargo, el éxito de los procedimientos con el MTA depende de un diagnóstico correcto, de la técnica operatoria cuidadosa, de las condiciones del diente en tratamiento y del cuadro sistémico del paciente. Este producto debe utilizarse de acuerdo con las instrucciones de este folleto.

## ENGLISH

## INTRODUCTION

White MTA is an endodontic cement composed of several mineral oxides. It is constituted by thin hydrophilic particles. It is indicated in cases of root canal lateral and furcation perforations, internal resorption, reverse root filling, pulp capping, pulpotomy, apexification, and apexigenesis. White MTA presents several advantages when compared to other products, such as:

- Particle size which allows complete wetting during mixing.
- Excellent marginal sealing; avoids bacterial migration and penetration of tissue fluids in the root canal.
- Biological enclosing of root canal and furcation perforations through induction of periradicular cement formation.
- Promotes the formation of a dentin bridge when used in pulp capping.
- Unlike other cements, which demand a completely dry field, White MTA is indicated when moisture



control is inadequate (e.g., surgery for treatment of root perforation, reverse root filling), without loss of its properties.

#### COMPOSITION

- $\text{SiO}_2$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{SO}_3$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{B}_2\text{O}_3$ ,  $\text{MgO}$
- Insoluble residues of  $\text{CaO}$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and crystalline silica.

#### PROPERTIES

- Setting reaction: When mixed with distilled water it forms a gel that solidifies if kept in a wet environment. The initial setting time is approximately 10 minutes and the final is 15 minutes. It is not necessary to wait for the final set to continue treatment procedures.
  - Hydrogen ion concentration (pH): After mixing, pH value is 10; in 3 hours it becomes highly alkaline (12) which prevents bacterial growth and maintains a long lasting bactericidal potential.
  - Radiopacity: Nearly matches that of gutta-percha. More radiopaque than dentine and bone.
  - Compressive Strength: 40 MPa after 24 hours and 65 MPa after 21 days.
- ① Sites of application do not receive direct occlusal load.

#### DIRECTIONS FOR USE

1. Sterilize a glass slab, a metal spatula and all instruments for the insertion of White MTA.
  2. Mix for 30 seconds the content of 1 sachet of MTA (or 1 spoon of MTA) with 1 drop of distilled water. The mixture should be homogeneous and with a consistency similar to wet sand.
  3. Place the cement on the selected site with a sterilized amalgam carrier or other appropriate instrument.
  4. Condense the cement with instruments such as amalgam condensers, a number 1 spatula or absorbent paper points moistened with distilled water.
- ① **IMPORTANT:** If MTA is not used immediately after mixing, its dehydration can be prevented and the working time increased by covering the mix on the glass slab with a wet gauze. If the mixed MTA dehydrates, it must be discarded.

#### INDICATIONS

1. Treatment of perforations of root canal and furcation caused iatrogenically or by caries lesion (Figs. 1 and 2).
2. Via canal treatment of root perforation due to internal resorption (Fig. 3).
3. Surgical treatment of root perforation due to internal resorption (Fig. 4).
4. Periapical surgery with reverse filling (Fig. 5).
5. Pulp capping.
6. Pulpotomy (removal of affected coronal pulp to preserve vitality of remaining pulp tissue (Fig. 6).
7. Apexigenesis (induction of root development in vital teeth with an inflamed coronal pulp).
8. Apexification (induction of formation of a mineralized barrier at the root tip of young permanent teeth with incomplete root development and a necrotic pulp (Fig. 7).

#### WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Use eye protection, mask and gloves when handling White MTA. In case of eye or skin contact, wash abundantly with water.
  - Only open the sachet or bottle immediately prior to use. The MTA powder is very sensitive to humidity.
  - Do not use MTA to fill a root canal. Its viscosity is inadequate for this procedure and very difficult to remove in case of a reentry.
  - Do not use MTA in areas of the tooth in contact with the gingival sulcus or it will be completely dissolved.
  - Only use MTA after remission of acute signs and symptoms of the endodontic disease. The acidic pH of endodontically compromised sites (lesions) prevents its setting reaction.
  - Apply MTA carefully. Similar to other endodontic cements, it is resorbed if extruded. However, the excess of any cement may impair the healing process.
- ① **IMPORTANT:** The information provided in this manual is based on laboratory and clinical studies. The successful use of White MTA depends on a correct diagnosis, the operative technique, the condition of the treated tooth and the general health of the patient. This product must be used according to this manual.

#### ITALIANO

#### DESCRIZIONE

MTA-Angelus è un cemento endodontico composto da microparticelle idrofile di molti ossidi minerali. In presenza di acqua, genera un gel colloidale che si solidifica presto per formare una forte barriera impermeabile. È indicato specialmente in casi di perforazioni radicolari, riassorbimenti interni, otturazioni retrograde e incappucciamento del la polpa. MTA-Angelus presenta molti vantaggi se comparato all'amalgama e a cementi a base di ossido di zinco od eugenolo. Nello specifico:

- Eccellente chiusura e resistenza all'infiltrazione marginale: infatti MTA-Angelus previene la migrazione batterica e la penetrazione di fluidi nel canale radicolare;
- Permette una naturale risposta alla guarigione senza infiammazioni nei casi di perforazioni radicolari stimolando la formazione di cemento peri-radicolare;
- Promuove la formazione di un ponte di dentina se utilizzato in casi di incappucciamento della polpa;
- Diversamente dagli altri cementi, che necessitano di un campo di utilizzo completamente asciutto, MTA-Angelus mantiene le sue proprietà anche in ambienti umidi (ad es.: trattamenti chirurgici in seguito a perforazione apicale; otturazioni retrograde).
- In presenza di umidità MTA-Angelus non presenta un grado di solubilità significativo, garantendo un eccellente sigillo e un'ottima resistenza alle infiltrazioni marginali.

#### COMPOSIZIONE

$\text{SiO}_2$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{SO}_3$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{B}_2\text{O}_3$ ,  $\text{MgO}$  e residui insolubili di  $\text{CaO}$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e silicio cristallizzato.

#### PROPRIETÀ

1. **Tempo di presa:** In contatto con l'acqua forma un gel che solidifica in 10 fino a 15 minuti. Tempo di presa Iniziale: 10 minuti; finale: 15 minuti. Non è necessario aspettare la presa definitiva per proseguire il trattamento.

2. **Concentrazione di ioni di idrogeno (pH):** Molto alcalino (pH 12); previene la crescita batterica mantenendo a lungo un potenziale battericida.
3. **Radiopacità:** Superiore a quella di dentina e osso; si avvicina molto a quella della guttaperca. Favorisce l'osservazione radiografica.
4. **Resistenza alla compressione:** 44,2 MPa dopo 28 giorni, valore accettabile considerando che l'area di applicazione non riceve un carico occlusale diretto

#### ISTRUZIONI PER L'USO

1. Il cucchiaino per la misurazione deve essere disinfettato chimicamente (immersione per 10 minuti in alcool al 70%).
  2. Distribuire un cucchiaino (a livello) di polvere MTA-Angelus con una goccia di acqua distillata su di una lastra di vetro;
  3. Mescolare con uno spatolino per 30 secondi fino a ottenere un composto omogeneo, con una consistenza simile alla sabbia bagnata.
  4. Con un carrier sterile posizionare il composto nell'area selezionata e compattarlo.
- ① **IMPORTANTE:** Se MTA-Angelus non è utilizzato immediatamente dopo la miscelazione, si può prevenire la disidratazione e incrementarne il tempo di lavorazione, coprendo il composto sulla lastra di vetro con una garza bagnata.

#### PRECAUZIONI E SUGGERIMENTI

1. Usare occhiali di protezione, maschera e guanti al maneggiare MTA. In caso di contatto del prodotto con gli occhi o pelle lavare con acqua.
  2. Richiudere prontamente il tappo del contenitore della polvere. La polvere è estremamente sensibile all'umidità.
  3. Non usare MTA-Angelus per otturare un canale radicolare
  4. Non utilizzare MTA nei luoghi a contatto con il solco gengivale, poiché avverrebbe la completa solubilizzazione del cemento.
  5. Il pH acido di aree con lesioni previene la reazione di presa del prodotto. Si consiglia di utilizzare il prodotto dopo la scomparsa di una sintomatologia acuta.
  6. In caso di fuoriuscita MTA-Angelus viene riassorbito. Ciò nonostante l'estrusione o l'eccesso di cemento possono danneggiare il processo di guarigione.
- ① **ATTENZIONE:** Tutte le informazioni riportate di seguito sono basate su ricerche cliniche e scientifiche. Il successo clinico dipende da una corretta diagnosi e un'attenta tecnica operativa, ma anche dalle condizioni del dente trattato e dalla salute generale del paziente.

#### REFERÊNCIAS | REFERENCIAS | REFERENCES | RIFERIMENTI

1. Torabinejad M, Hong C, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root end-filling material. J Endod. 1995 Jul; 21(7):349-53.
2. Torabinejad M, Hong C, Lee SJ, Monsef M, Pitt Ford TR. Investigation of mineral trioxide aggregate for root-end filling in dogs. J Endod. 1995 Dec; 21(12):603-608.
3. Bernabé PFE, Holland R. O emprego do MTA na cirurgia parodontológica. Endonews 1999, 2: 2-5.
4. Faraco Jr IM, Holland R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. Dent Traumatol. 2001 Aug; 17(4):163-6.
5. Holland R, Otoboni Filho JA, de Souza V, Nery MJ, Bernabé PFE, Dezan Jr E. Mineral trioxide aggregate repair of lateral root perforations. J Endod. 2001 Apr; 27(4):281-4.
6. Bernabé PFE, Holland R. MTA e cimento Portland: considerações sobre as propriedades físicas, químicas e biológicas. In: Cardoso RJA, coordenador. Odontologia - Arte e Conhecimento - 20º Congresso Internacional de Odontologia de São Paulo/vol.1. São Paulo: Artes Médicas; 2003.

CE ANVISA:  
0434 10349450023



Responsável técnico/Responsable técnico/Technical contact: Sônia M. Alcântara - CRO-PR 4536

EC REP EU Representative: Marco A. Canonico e Silva

E-mail: eurepresentative@angelus.ind.br - Freguesia Figueira - Lugar da Souta, 4575 - Entre Rios - Portugal

Fabricado por / Producido por / Manufactured by: Angelus Indústria de Produtos Odontológicos S/A  
Rua Waldir Landgraf, 101 - Bairro Lindóia - CEP 86031-218 - Londrina - PR - Brasil

**ATENÇÃO:** Este produto deve ser usado de acordo com as instruções deste manual. O fabricante não é responsável por falhas ou danos causados pela utilização incorreta deste produto ou pela sua utilização em situações de não conformidade deste manual.

**ATENCIÓN:** Este producto debe ser usado de acuerdo con las instrucciones de este manual. El fabricante no es responsable por fallos o daños causados por la utilización incorrecta de este producto, o por su utilización en situaciones que no estén de acuerdo con este manual.

**ATTENTION:** This product must be used according to the instructions described in this manual. The manufacturer is not responsible for failure or damage caused by incorrect handling or use.

**ATTENZIONE:** Il prodotto va utilizzato conforme alle istruzioni di questo manuale. Il fabbricante non è responsabile per danni dovuti all'utilizzo incorretto di questo prodotto o per l'utilizzo in situazioni non conformi al manuale.



#### Simbologia | Simbología | Symbology

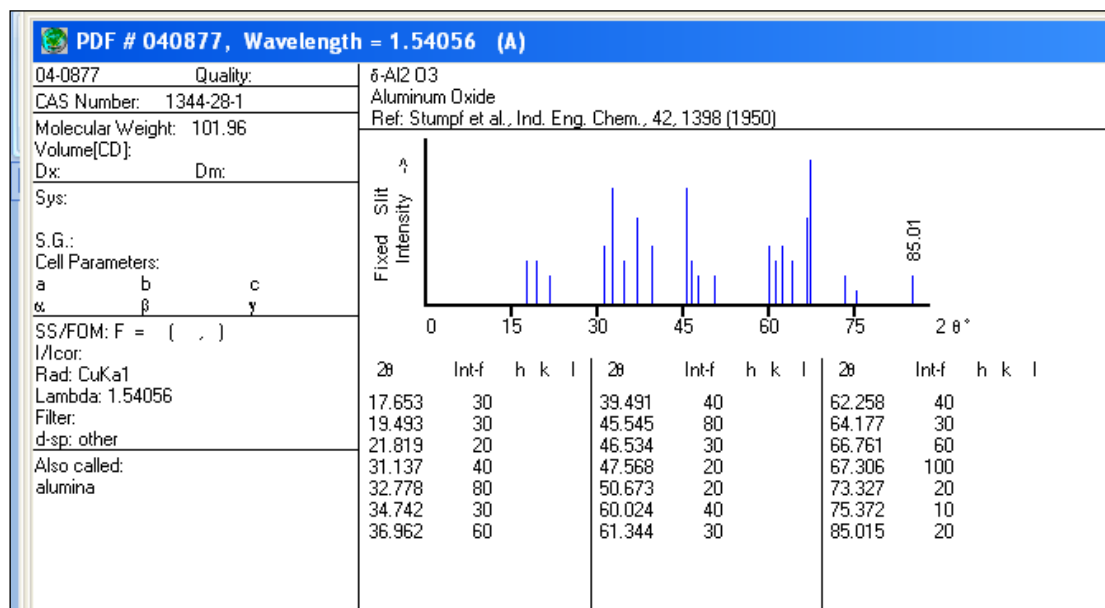
	Manter seco. Mantener seco. Keep dry. Mantener asciutto.
	Cuidado, consultar documentos acompañantes. Cuidado, consultar documentos adjuntos. For care, see accompanying documents. Attenzione, consultare i documenti che seguono il prodotto.
	Manter ao abrigo do sol. Mantener al abrigo del sol. Keep under shelter of the sun. Mantener al riparo dal sole.
	Produto de uso único. Producto de uso único. Disposable product. Prodotto utilizzabile una sola volta.

**ANEXO B – Impurezas presentes nos reagentes utilizados na obtenção da hidroxiapatita**

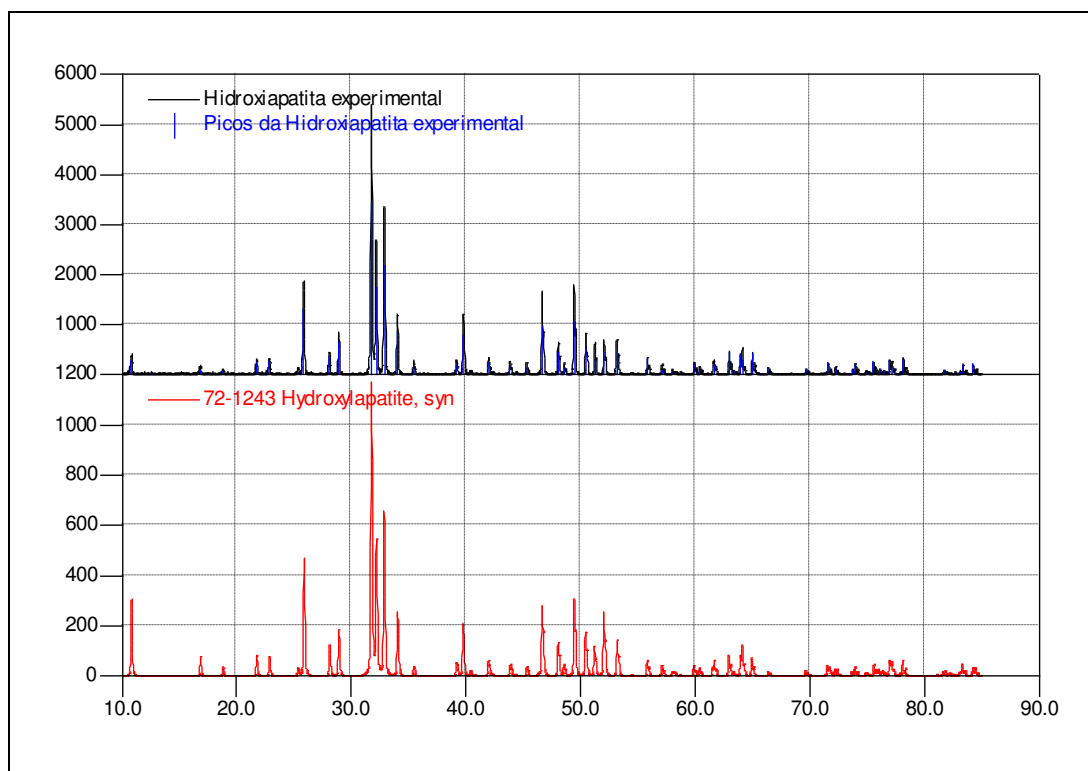
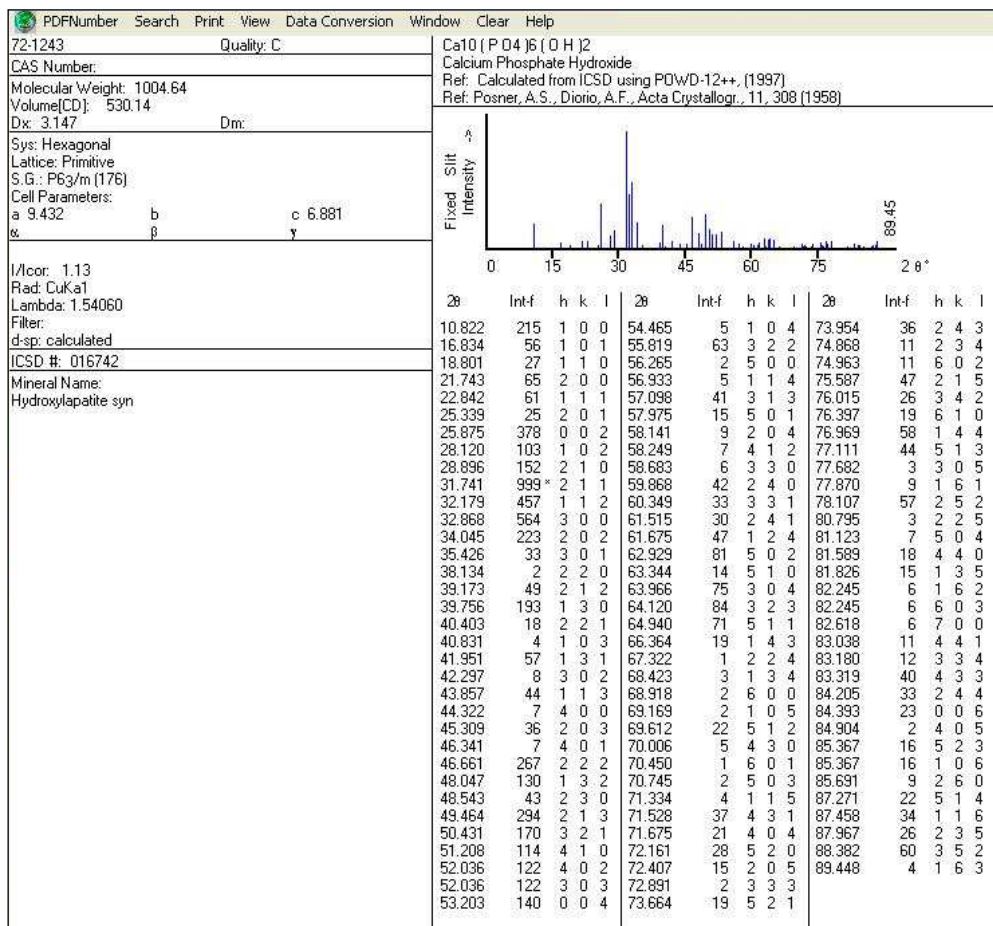
<b>REAGENTE</b>	<b>IMPUREZA</b>	<b>TEOR (%)</b>
Hidróxido de cálcio PA – Ca(OH) <sub>2</sub>	Ca(OH) <sub>2</sub>	Min 95,0%
	CaCO <sub>3</sub>	Máx 3,0%
	Cloreto (Cl)	Máx 0,03%
	Compostos sulfurados com (SO <sub>4</sub> )	Máx 0,1%
	Metais pesados (como Pb)	Máx 0,003%
	Ferro (Fe)	Máx 0,05%
	Magnésio e sais básicos (como sulfatos)	Máx 1,0 %
Ácido Fosfórico PA ACS ISO – H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Cloreto (Cl)	Máx 0,0003%
	Sulfato (SO <sub>4</sub> )	Máx 0,005%
	Arsênio (As)	Máx 0,0001%
	Cádmio (Cd)	Máx 0,0005%
	Cobre (Cu)	Máx 0,0005%
	Ferro (Fe)	Máx 0,001%
	Chumbo (Pb)	Máx 0,001%
	Manganês (Mn)	Máx 0,0005%
	Níquel (Ni)	Máx 0,0005%
	Potássio (K)	Máx 0,005%
	Sódio (Na)	Máx 0,05%
	Zinco (Zn)	Máx 0,001%
	Ácidos voláteis (m Mol H <sup>+</sup> )	Máx 0,02/100g

## ANEXO C – Fichas padrão da análise de DRX

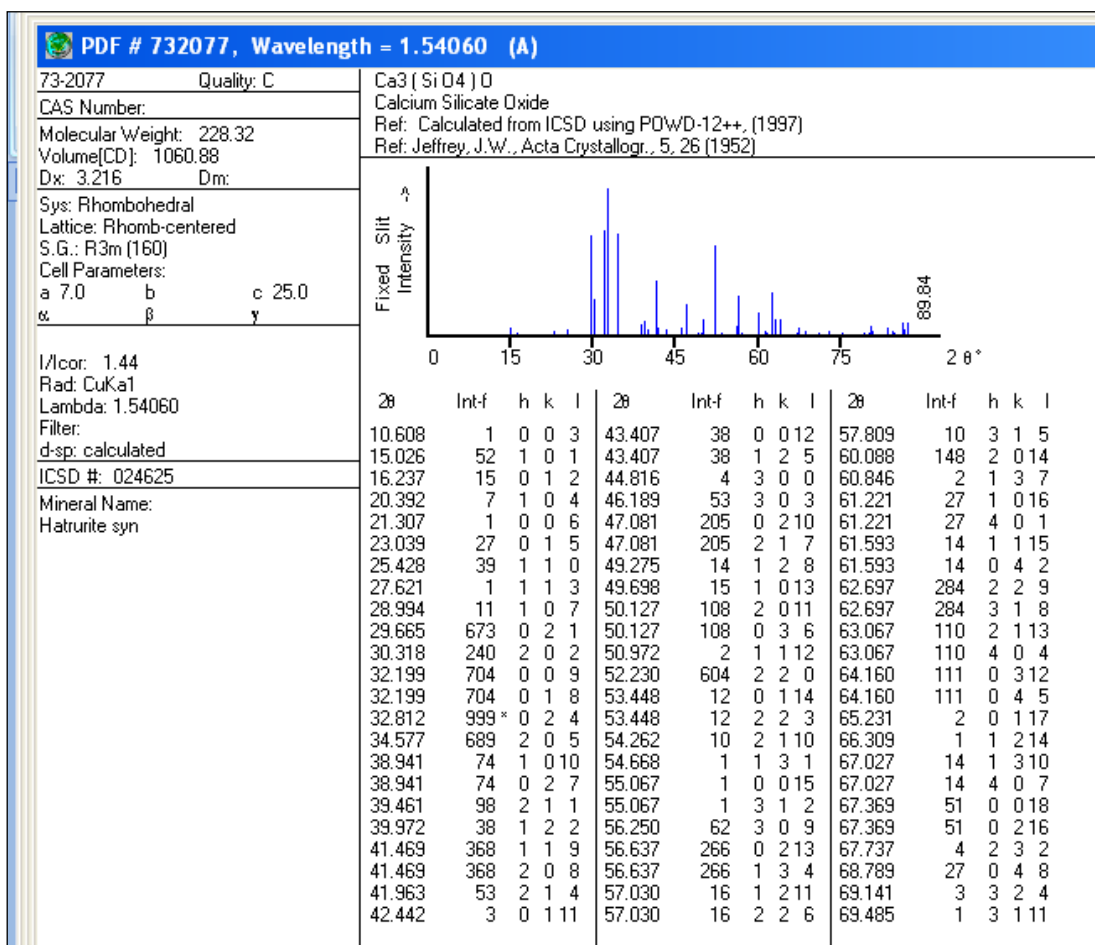
### C 1 - Ficha do JCPDS – 04-0877 para o óxido de alumínio



## C 2 - Ficha do JCPDS – 72-1243 para a hidroxiapatita

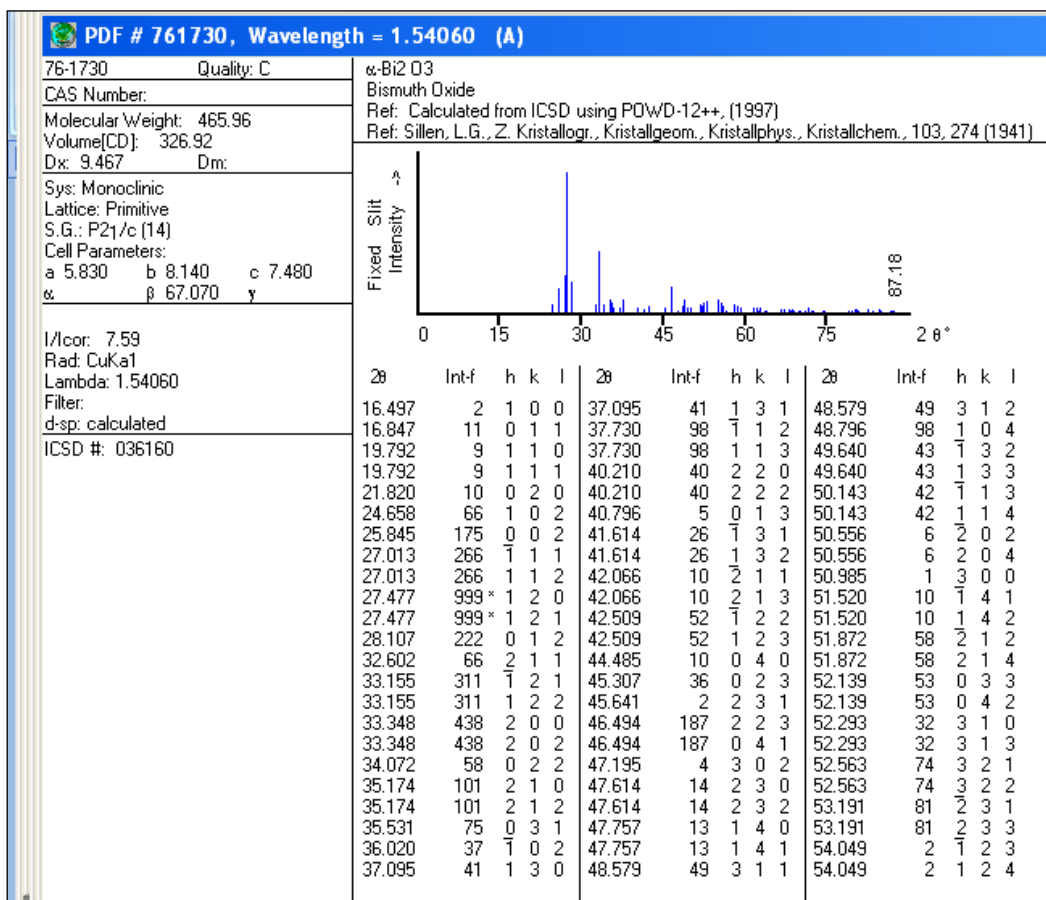


### C 3 - Ficha do JCPDS – 73-2077 para o óxido silicato de cálcio.





## C 4 - Ficha do JCPDS – 76-1730 para o óxido de bismuto





## ANEXO D – Carta do Comitê de Ética.



FACISA

FCM  
Campus Estácio-RE

Faculdade Superior de Ciências Odontológicas

CENTRO DE ENSINO SUPERIORE DESENVOLVIMENTO  
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DE CAMPINA GRANDE  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA/CESED

### PARECER

NÚMERO DO PROJETO: 007140911

APROVADO EM: 14/11/2011

**1. Pesquisador responsável:**

Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa

**2. Título do projeto:**

Estudo in vitro e in vivo da hidroxiapatita no cimento endodôntico MTA e seu efeito osteocondutor em ratos Wistar (*rattus norvegicus*)

**3. Objetivo:**

Avaliar o efeito da hidroxiapatita no cimento endodôntico MTA visando adquirir propriedade osteocondutora em ratos Wistar (*rattus norvegicus*)

**4. Consideração:**

Após feita as correções o projeto de número 007140911, está de acordo com as especificações da CEUA/CESED. O projeto apresentado está bem discriminado e coerente com as normas de utilização de animais. O protocolo de pesquisa está devidamente preenchido.

**5. Parecer final:**

Aprovado

Campina Grande, 14/11/2011

Chirlaine Cristine Gonçalves - Coordenadora da CEUA

Thárcia Kiara B. De Oliveira - Vice-Coordenadora da CEUA/ Veterinária responsável



## ANEXO E – Análise estatística detalhada da presença dos bioimplantes *in vivo*.

Tabela 9: Avaliação da presença dos bioimplantes segundo o grupo e tempo de avaliação.

Grupo / resposta	Dias de avaliação						Valor de p
	15		30		45		
	N	%	N	%	N	%	
<b>A1</b>							
Ausente	-	-	2	40,0	4	80,0	p <sup>(1)</sup> = 0,066
Presente	5	100,0	3	60,0	1	20,0	
<b>A2</b>							
Ausente	-	-	-	-	-	-	**
Presente	5	100,0	5	100,0	5	100,0	
<b>B1</b>							
Ausente	0	-	0	-	0	-	p <sup>(1)</sup> = 1,000
Presente	5	100,0	5	100,0	5	100,0	
<b>B2</b>							
Ausente	0	-	1	20,0	1	20,0	p <sup>(1)</sup> = 1,000
Presente	5	100,0	4	80,0	4	80,0	
<b>C</b>							
Ausente	1	20,0	1	20,0	2	40,0	**
Presente	4	80,0	4	80,0	3	60,0	
<b>D</b>							
Ausente	5	100,0	5	100,0	5	100,0	**
Presente	-	-	-	-	-	-	
<b>Valor de p</b>	p <sup>(2)</sup> = 0,001*		p <sup>(2)</sup> = 0,001*		p <sup>(2)</sup> = 0,001*		

(\*\*): Não foi determinado devido á ocorrência das freqüências em uma única categoria.

(1): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os tempos em cada grupo.

(2): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os grupos em cada tempo.

## ANEXO F – Análise estatística detalhada da neoformação óssea.

Tabela 10: Avaliação do grau da neoformação óssea segundo o grupo e tempo de avaliação

Grupo / resposta	Dias de avaliação						Valor de p
	15		30		45		
	n	%	n	%	n	%	
<b>A1</b>							
Ausente	-	-	-	-	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,071
Leve	2	40,0	-	-	-	-	
Moderada	2	40,0	1	20,0	0	-	
Completa	1	20,0	4	80,0	5	100,0	
<b>A2</b>							
Ausente	2	40,0	1	20,0	1	20,0	p <sup>(1)</sup> = 1,000
Leve	3	60,0	3	60,0	3	60,0	
Moderada	-	-	-	-	-	-	
Completa	-	-	1	20,0	1	20,0	
<b>B1</b>							
Ausente	2	40,0	-	-	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,321
Leve	1	20,0	1	20,0	-	-	
Moderada	2	40,0	3	60,0	3	60,0	
Completa	-	-	1	20,0	2	40,0	
<b>B2</b>							
Ausente	-	-	-	-	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,213
Leve	4	80,0	-	-	-	-	
Moderada	-	-	3	60,0	3	60,0	
Completa	1	20,0	2	40,0	2	40,0	
<b>C</b>							
Ausente	-	-	-	-	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,256
Leve	-	-	-	-	-	-	
Moderada	4	80,0	3	60,0	2	40,0	
Completa	1	20,0	2	40,0	3	60,0	
<b>D</b>							
Ausente	5	100,0	2	40,0	1	20,0	p <sup>(1)</sup> = 0,036*
Leve	-	-	2	40,0	-	-	
Moderada	-	-	1	20,0	3	60,0	
Completa	-	-	-	-	1	20,0	
<b>Valor de p</b>	p <sup>(2)</sup> = 0,002*		p <sup>(2)</sup> = 0,027*		p <sup>(2)</sup> = 0,001*		

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(\*\*): Não foi determinado devido á ocorrência das frequências em uma única categoria.

(1): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os tempos em cada grupo.

(2): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os grupos em cada tempo.

## ANEXO G – Média, desvio padrão e mediana do grau da neoformação óssea

Tabela 11: Média e desvio padrão e mediana do grau da neoformação óssea segundo o grupo e tempo de avaliação

Grupo / resposta	Dias de avaliação			Valor de p
	15 Média ± DP (Mediana)	30 Média ± DP (Mediana)	45 Média ± DP (Mediana)	
A1	1,80 ± 0,84 (2,00) <sup>(α,ad)</sup>	3,00 ± 0,00 (3,00) <sup>(β,a)</sup>	2,80 ± 0,45 (3,00) <sup>(β,a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,031*
A2	0,60 ± 0,55 (1,00) <sup>(bce)</sup>	1,00 ± 0,71 (1,00) <sup>(b)</sup>	0,80 ± 0,45 (1,00) <sup>(b)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,850
B1	1,00 ± 0,00 (1,00) <sup>(ac)</sup>	2,20 ± 0,84 (2,00) <sup>(acd)</sup>	2,20 ± 0,45 (2,00) <sup>(a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,085
B2	1,60 ± 1,34 (1,00) <sup>(acf)</sup>	2,40 ± 0,55 (2,00) <sup>(ac)</sup>	2,40 ± 0,55 (2,00) <sup>(a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,540
C	2,20 ± 0,45 (2,00) <sup>(df)</sup>	1,60 ± 0,55 (2,00) <sup>(bc)</sup>	2,40 ± 0,55 (2,00) <sup>(a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,145
D	0,00 ± 0,00 (0,00) <sup>(be)</sup>	1,40 ± 1,14 (1,00) <sup>(bd)</sup>	1,20 ± 1,09 (2,00) <sup>(b)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,057
<b>Valor de p</b>	<b>p<sup>(2)</sup> = 0,002*</b>	<b>P<sup>(2)</sup> = 0,002*</b>	<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>	

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(1): Através do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre os tempos em cada grupo com comparações do referido teste.

(2): Através do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre os grupos em cada tempo com comparações do referido teste.

Obs. Se as letras gregas entre parêntesis são distintas se comprova diferenças significativas entre as avaliações correspondentes em cada grupo.

Obs. Se as letras latinas entre parêntesis são distintas se comprova diferenças significativas entre os grupos correspondentes em cada uma das avaliações.

## ANEXO H – Avaliação do grau da reabsorção óssea

Tabela 12: Avaliação do grau da reabsorção óssea segundo o grupo e tempo de avaliação

Grupo / resposta	Dias de avaliação						Valor de p
	15		30		45		
	n	%	n	%	n	%	
<b>A1</b>							
Ausente	5	100,0	5	100,0	5	100,0	**
Leve	-	-	-	-	-	-	
Moderada	-	-	-	-	-	-	
Completa	-	-	-	-	-	-	
<b>A2</b>							
Ausente	5	100,0	5	100,0	4	80,0	p <sup>(1)</sup> = 1,000
Leve	-	-	-	-	1	20,0	
Moderada	-	-	-	-	-	-	
Completa	-	-	-	-	-	-	
<b>B1</b>							
Ausente	4	80,0	5	100,0	5	100,0	p <sup>(1)</sup> = 1,000
Leve	-	-	-	-	-	-	
Moderada	1	20,0	-	-	-	-	
Completa	-	-	-	-	-	-	
<b>B2</b>							
Ausente	5	100,0	5	100,0	5	100,0	**
Leve	-	-	-	-	-	-	
Moderada	-	-	-	-	-	-	
Completa	-	-	-	-	-	-	
<b>C</b>							
Ausente	5	100,0	5	100,0	5	100,0	**
Leve	-	-	-	-	-	-	
Moderada	-	-	-	-	-	-	
Completa	-	-	-	-	-	-	
<b>D</b>							
Ausente	5	100,0	5	100,0	4	80,0	p <sup>(1)</sup> = 1,000
Leve	-	-	-	-	-	-	
Moderada	-	-	-	-	1	20,0	
Completa	-	-	-	-	-	-	
<b>Valor de p</b>	<b>p<sup>(2)</sup> = 1,000</b>		<b>**</b>		<b>p<sup>(2)</sup> = 1,000</b>		

(\*\*): Não foi determinado devido à ocorrência das frequências em uma única categoria.

(1): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os tempos em cada grupo.

(2): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os grupos em cada tempo.

## ANEXO I – Média, desvio padrão e mediana do grau da reabsorção óssea

Tabela 13: Média e desvio padrão e mediana do grau da reabsorção óssea segundo o grupo e tempo de avaliação

Grupo / resposta	Dias de avaliação			Valor de p
	15 Média ± DP (Mediana)	30 Média ± DP (Mediana)	45 Média ± DP (Mediana)	
A1	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	p <sup>(1)</sup> = 1,000
A2	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,20 ± 0,45 (0,00)	p <sup>(1)</sup> = 1,000
B1	0,40 ± 0,89 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	p <sup>(1)</sup> = 1,000
B2	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	p <sup>(1)</sup> = 1,000
C	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	p <sup>(1)</sup> = 1,000
D	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,40 ± 0,89 (0,00)	p <sup>(1)</sup> = 1,000
Valor de p	p <sup>(2)</sup> = 1,000	p <sup>(2)</sup> = 1,000	p <sup>(2)</sup> = 1,000	

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(1): Através do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre os tempos em cada grupo.

(2): Através do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre os grupos em cada tempo.

## ANEXO J – Avaliação do grau da fratura óssea

Tabela 14: Avaliação do grau da fratura óssea segundo o grupo e tempo de avaliação

Grupo / resposta	Dias de avaliação						Valor de p
	15		30		45		
	n	%	n	%	n	%	
<b>A1</b>							
Ausente	5	100,0	5	100,0	5	100,0	**
Leve	-	-	-	-	-	-	
Moderada	-	-	-	-	-	-	
Completa	-	-	-	-	-	-	
<b>A2</b>							
Ausente	5	100,0	5	100,0	5	100,0	**
Leve	-	-	-	-	-	-	
Moderada	-	-	-	-	-	-	
Completa	-	-	-	-	-	-	
<b>B1</b>							
Ausente	5	100,0	5	100,0	5	100,0	**
Leve	-	-	-	-	-	-	
Moderada	-	-	-	-	-	-	
Completa	-	-	-	-	-	-	
<b>B2</b>							
Ausente	5	100,0	5	100,0	5	100,0	**
Leve	-	-	-	-	-	-	
Moderada	-	-	-	-	-	-	
Completa	-	-	-	-	-	-	
<b>C</b>							
Ausente	5	100,0	5	100,0	5	100,0	**
Leve	-	-	-	-	-	-	
Moderada	-	-	-	-	-	-	
Completa	-	-	-	-	-	-	
<b>D</b>							
Ausente	5	100,0	4	80,0	4	80,0	p <sup>(1)</sup> = 1,000
Leve	-	-	-	-	-	-	
Moderada	-	-	-	-	1	20,0	
Completa	-	-	1	20,0	-	-	
<b>Valor de p</b>	<b>**</b>		<b>p<sup>(2)</sup> = 1,000</b>		<b>p<sup>(2)</sup> = 1,000</b>		

(\*\*): Não foi determinado devido à ocorrência das frequências em uma única categoria.

(1): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os tempos em cada grupo.

(2): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os grupos em cada tempo.

## ANEXO K – Média e desvio padrão e mediana do grau da fratura óssea

Tabela 15: Média e desvio padrão e mediana do grau da fratura óssea segundo o grupo e tempo de avaliação

Grupo / resposta	Dias de avaliação			Valor de p
	15 Média ± DP (Mediana)	30 Média ± DP (Mediana)	45 Média ± DP (Mediana)	
A1	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	p <sup>(1)</sup> = 1,000
A2	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	p <sup>(1)</sup> = 1,000
B1	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	p <sup>(1)</sup> = 1,000
B2	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	p <sup>(1)</sup> = 1,000
C	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00)	p <sup>(1)</sup> = 1,000
D	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,60 ± 1,34 (0,00)	0,40 ± 0,89 (0,00)	p <sup>(1)</sup> = 1,000
Valor de p	p <sup>(2)</sup> = 1,000	p <sup>(2)</sup> = 1,000	p <sup>(2)</sup> = 1,000	

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(1): Através do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre os tempos em cada grupo.

(2): Através do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre os grupos em cada tempo.



## ANEXO L – Avaliação do infiltrado inflamatório

Tabela 16: Avaliação do infiltrado inflamatório segundo o grupo e tempo de avaliação

Grupo / resposta	Dias de avaliação						Valor de p
	15		30		45		
	n	%	n	%	N	%	
<b>A1</b>							
Leve	-	-	-	-	5	100,0	p <sup>(1)</sup> < 0,001*
Moderado	-	-	5	100,0	-	-	
Intenso	5	100,0	-	-	-	-	
<b>A2</b>							
Leve	-	-	5	100,0	5	100,0	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Moderado	-	-	-	-	-	-	
Intenso	5	100,0	-	-	-	-	
<b>B1</b>							
Leve	-	-	5	100,0	5	100,0	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Moderado	5	100,0	-	-	-	-	
<b>B2</b>							
Ausente	-	-	-	-	5	100,0	p <sup>(1)</sup> < 0,001*
Leve	-	-	5	100,0	-	-	
Moderado	5	100,0	-	-	-	-	
<b>C</b>							
Leve	-	-	5	100,0	5	100,0	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Moderado	5	100,0	-	-	-	-	
<b>D</b>							
Leve	-	-	5	100,0	5	100,0	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Intenso	5	100,0	-	-	-	-	
<b>Valor de p</b>	p <sup>(2)</sup> < 0,001*		p <sup>(2)</sup> < 0,001*		p <sup>(2)</sup> < 0,001*		

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(1): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os tempos em cada grupo.

(2): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os grupos em cada tempo.

## ANEXO M – Média da avaliação do infiltrado inflamatório

Tabela 17: Média da avaliação do infiltrado inflamatório segundo o grupo e tempo de avaliação

Grupo / resposta	Dias de avaliação			Valor de p
	15 (Média)	30 (Média)	45 (Média)	
A1	3,00 <sup>(α, a)</sup>	2,00 <sup>(β, a)</sup>	1,00 <sup>(α, a)</sup>	p <sup>(1)</sup> < 0,001*
A2	3,00 <sup>(α, a)</sup>	1,00 <sup>(β, b)</sup>	1,00 <sup>(β, a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
B1	2,00 <sup>(α, b)</sup>	1,00 <sup>(β, b)</sup>	1,00 <sup>(β, a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
B2	2,00 <sup>(α, b)</sup>	1,00 <sup>(β, b)</sup>	0,00 <sup>(α, b)</sup>	p <sup>(1)</sup> < 0,001*
C	2,00 <sup>(α, b)</sup>	1,00 <sup>(β, b)</sup>	1,00 <sup>(β, a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
D	3,00 <sup>(α, a)</sup>	1,00 <sup>(β, b)</sup>	1,00 <sup>(β, a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
<b>Valor de p</b>	<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>	<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>	<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>	

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(1): Através do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre os tempos em cada grupo com comparações do referido grupo.

(2): Através do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre os grupos em cada tempo com comparações do referido grupo.

Obs: Se as letras gregas são distintas se comprova diferenças significativas entre os tempos correspondentes para cada grupo.

Obs: Se as letras latinas são distintas se comprova diferenças significativas entre os grupos correspondentes para cada tempo de avaliação.

## ANEXO N – Avaliação da atividade osteoblástica

Tabela 18: Avaliação da atividade osteoblástica segundo o grupo e tempo de avaliação

Grupo / resposta	Dias de avaliação						Valor de p
	15		30		45		
	n	%	n	%	n	%	
<b>A1</b>							
Intenso	5	100,0	5	100,0	5	100,0	**
<b>A2</b>							
Moderada	5	100,0	5	100,0	5	100,0	**
<b>B1</b>							
Moderada	-	-	5	100,0	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Intenso	5	100,0	-	-	5	100,0	
<b>B2</b>							
Moderada	-	-	5	100,0	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Intenso	5	100,0	-	-	5	100,0	
<b>C</b>							
Moderada	5	100,0	5	100,0	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Intenso	-	-	-	-	5	100,0	
<b>D</b>							
Moderada	5	100,0	5	100,0	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Intenso	-	-	-	-	5	100,0	
<b>Valor de p</b>	p <sup>(2)</sup> < 0,001*		p <sup>(2)</sup> < 0,001*		p <sup>(2)</sup> < 0,001*		

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(\*\*): Não foi determinado devido á ocorrência das freqüências em uma única categoria.

(1): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os tempos em cada grupo.

(2): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os grupos em cada tempo.

## ANEXO O – Média da avaliação da atividade osteoblástica

Tabela 19: Média da avaliação da atividade osteoblástica segundo o grupo e tempo de avaliação

Grupo / resposta	Dias de avaliação			Valor de p
	15 Média ±	30	45	
A1	3,00 <sup>(a)</sup>	3,00 <sup>(a)</sup>	3,00 <sup>(a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 1,000
A2	2,00 <sup>(b)</sup>	2,00 <sup>(b)</sup>	2,00 <sup>(b)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 1,000
B1	3,00 <sup>(α, a)</sup>	2,00 <sup>(β, b)</sup>	3,00 <sup>(α, a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
B2	3,00 <sup>(α, a)</sup>	2,00 <sup>(β, b)</sup>	3,00 <sup>(α, a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
C	2,00 <sup>(α, b)</sup>	2,00 <sup>(α, b)</sup>	3,00 <sup>(β, a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
D	2,00 <sup>(α, b)</sup>	2,00 <sup>(α, b)</sup>	3,00 <sup>(β, a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
<b>Valor de p</b>	<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>	<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>	<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>	

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(1): Através do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre os tempos em cada grupo.

(2): Através do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre os grupos em cada tempo.

## ANEXO P – Avaliação da neoformação óssea

Tabela 20: Avaliação da neoformação óssea segundo o grupo e tempo de avaliação

Grupo / resposta	Dias de avaliação						Valor de p
	15		30		45		
	n	%	n	%	n	%	
<b>A1</b>							
Intenso	5	100,0	-	-	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Completa	-	-	5	100,0	5	100,0	
<b>A2</b>							
Moderada	5	100,0	-	-	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Intensa	-	-	5	100,0	5	100,0	
<b>B1</b>							
Leve	5	100,0	-	-	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Completa	-	-	5	100,0	5	100,0	
<b>B2</b>							
Moderada	5	100,0	-	-	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Completa	-	-	5	100,0	5	100,0	
<b>C</b>							
Moderada	5	100,0	-	-	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Completa	-	-	5	100,0	5	100,0	
<b>D</b>							
Leve	5	100,0	-	-	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Intenso	-	-	5	100,0	5	100,0	
<b>Valor de p</b>	p <sup>(2)</sup> < 0,001*		p <sup>(2)</sup> < 0,001*		p <sup>(2)</sup> < 0,001*		

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(1): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os tempos em cada grupo.

(2): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os grupos em cada tempo.

## ANEXO Q – Média da avaliação da neoformação óssea

Tabela 21: Média da avaliação da neoformação óssea segundo o grupo e tempo de avaliação

Grupo / resposta	Dias de avaliação			Valor de p
	15 Média	30	45	
A1	3,00 <sup>(α, a)</sup>	4,00 <sup>(β, a)</sup>	4,00 <sup>(β, a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
A2	2,00 <sup>(α, b)</sup>	3,00 <sup>(β, b)</sup>	3,00 <sup>(β, b)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
B1	1,00 <sup>(α, c)</sup>	4,00 <sup>(β, a)</sup>	4,00 <sup>(β, a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
B2	2,00 <sup>(α, b)</sup>	4,00 <sup>(β, a)</sup>	4,00 <sup>(β, a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
C	2,00 <sup>(α, b)</sup>	4,00 <sup>(β, a)</sup>	4,00 <sup>(β, a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
D	1,00 <sup>(α, c)</sup>	3,00 <sup>(β, b)</sup>	3,00 <sup>(β, b)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
<b>Valor de p</b>	<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>	<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>	<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>	

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(1): Através do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre os tempos em cada grupo.

(2): Através do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre os grupos em cada tempo.

## ANEXO R – Avaliação da reação de corpo estranho

Tabela 22: Avaliação da reação de corpo estranho segundo o grupo e tempo de avaliação

Grupo / resposta	Dias de avaliação						Valor de p
	15		30		45		
	N	%	n	%	n	%	
<b>A1</b>							
Ausente	5	100,0	-	-	5	100,0	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Leve	-	-	5	100,0	-	-	
<b>A2</b>							
Ausente	5	100,0	5	100,0	5	100,0	**
<b>B1</b>							
Ausente	5	100,0	5	100,0	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Leve	-	-	-	-	5	100,0	
<b>B2</b>							
Ausente	5	100,0	5	100,0	5	100,0	**
<b>C</b>							
Ausente	5	100,0	5	100,0	5	100,0	**
<b>D</b>							
Ausente	5	100,0	5	100,0	5	100,0	**
<b>Valor de p</b>	<b>**</b>		<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>		<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>		

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(\*\*): Não foi determinado devido à ocorrência das frequências em uma única categoria.

(1): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os tempos em cada grupo.

(2): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os grupos em cada tempo.

## ANEXO S – Média da avaliação da reação de corpo estranho

Tabela 23: Média da avaliação da reação de corpo estranho segundo o grupo e tempo de avaliação

Grupo / resposta	Dias de avaliação			Valor de p
	15 Média ±	30	45	
A1	0,00 <sup>(α)</sup>	1,00 <sup>(β, a)</sup>	0,00 <sup>(α, a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
A2	0,00	0,00 <sup>(b)</sup>	0,00 <sup>(a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 1,000
B1	0,00 <sup>(α)</sup>	0,00 <sup>(α, b)</sup>	1,00 <sup>(β, b)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
B2	0,00	0,00 <sup>(b)</sup>	0,00 <sup>(a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 1,000
C	0,00	0,00 <sup>(b)</sup>	0,00 <sup>(a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 1,000
D	0,00	0,00 <sup>(b)</sup>	0,00 <sup>(a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 1,000
<b>Valor de p</b>	<b>p<sup>(2)</sup> = 1,000</b>	<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>	<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>	

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(1): Através do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre os tempos em cada grupo.

(2): Através do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre os grupos em cada tempo.



## ANEXO T – Avaliação da área de fibrose

Tabela 24: Avaliação da área de fibrose segundo o grupo e tempo de avaliação

Grupo / resposta	Dias de avaliação						Valor de p
	15		30		45		
	n	%	N	%	n	%	
<b>A1</b>							
Ausente	-	-	-	-	5	100,0	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Moderada	5	100,0	5	100,0	-	-	
<b>A2</b>							
Ausente	5	100,0	-	-	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Leve	-	-	5	100,0	5	100,0	
<b>B1</b>							
Ausente	-	-	5	100,0	5	100,0	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Leve	5	100,0	-	-	-	-	
<b>B2</b>							
Ausente	5	100,0	-	-	5	100,0	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Moderada	-	-	5	100,0	-	-	
<b>C</b>							
Leve	5	100,0	5	100,0	5	100,0	**
<b>D</b>							
Leve	-	-	5	100,0	5	100,0	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Moderada	5	100,0	-	-	-	-	
<b>Valor de p</b>	p <sup>(2)</sup> < 0,001*		p <sup>(2)</sup> < 0,001*		p <sup>(2)</sup> < 0,001*		

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(\*\*): Não foi determinado devido à ocorrência das frequências em uma única categoria.

(1): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os tempos em cada grupo.

(2): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os grupos em cada tempo.

## ANEXO U – Média da área de fibrose

Tabela 25: Média da área de fibrose segundo o grupo e tempo de avaliação

Grupo / resposta	Dias de avaliação			Valor de p
	15 Média ±	30	45	
A1	2,00 <sup>(α, a)</sup>	2,00 <sup>(α, a)</sup>	0,00 <sup>(β, a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
A2	0,00 <sup>(α, b)</sup>	1,00 <sup>(β, b)</sup>	1,00 <sup>(β, b)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
B1	1,00 <sup>(α, c)</sup>	0,00 <sup>(β, c)</sup>	0,00 <sup>(β, a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
B2	0,00 <sup>(α, b)</sup>	2,00 <sup>(β, a)</sup>	0,00 <sup>(α, a)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
C	1,00 <sup>(c)</sup>	1,00 <sup>(b)</sup>	1,00 <sup>(b)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 1,000
D	2,00 <sup>(α, a)</sup>	1,00 <sup>(β, b)</sup>	1,00 <sup>(β, b)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
<b>Valor de p</b>	<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>	<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>	<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>	

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(1): Através do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre os tempos em cada grupo.

(2): Através do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre os grupos em cada tempo.

## ANEXO V – Avaliação da reação de granulação

Tabela 26: Avaliação da reação de granulação segundo o grupo e tempo de avaliação

Grupo / resposta	Dias de avaliação						Valor de p
	15		30		45		
	n	%	n	%	n	%	
<b>A1</b>							
Ausente	-	-	-	-	5	100,0	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Leve	-	-	5	100,0	-	-	
Moderada	5	100,0	-	-	-	-	
<b>A2</b>							
Ausente	-	-	-	-	5	100,0	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Leve	-	-	5	100,0	-	-	
Moderada	5	100,0	-	-	-	-	
<b>B1</b>							
Ausente	-	-	5	100,0	5	100,0	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Leve	5	100,0	-	-	-	-	
<b>B2</b>							
Ausente	-	-	-	-	5	100,0	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Leve	5	100,0	5	100,0	-	-	
<b>C</b>							
Ausente	-	-	-	-	5	100,0	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Leve	-	-	5	100,0	-	-	
Moderada	5	100,0	-	-	-	-	
<b>D</b>							
Ausente	-	-	-	-	5	100,0	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
Leve	5	100,0	5	100,0	-	-	
<b>Valor de p</b>	p <sup>(2)</sup> < 0,001*		p <sup>(2)</sup> < 0,001*		**		

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(\*\*): Não foi determinado devido à ocorrência das frequências em uma única categoria.

(1): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os tempos em cada grupo.

(2): Através do teste Exato de Fisher para a comparação entre os grupos em cada tempo.

## ANEXO W – Média da reação de granulação

Tabela 27: Média da reação de granulação segundo o grupo e tempo de avaliação

Grupo / resposta	Dias de avaliação			Valor de p
	15 Média ±	30	45	
A1	2,00 <sup>(α, a)</sup>	1,00 <sup>(β, a)</sup>	0,00 <sup>(σ)</sup>	p <sup>(1)</sup> < 0,001*
A2	2,00 <sup>(α, a)</sup>	1,00 <sup>(β, a)</sup>	0,00 <sup>(σ)</sup>	p <sup>(1)</sup> < 0,001*
B1	1,00 <sup>(α, b)</sup>	0,00 <sup>(β, b)</sup>	0,00 <sup>(β)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
B2	1,00 <sup>(α, b)</sup>	1,00 <sup>(α, a)</sup>	0,00 <sup>(β)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
C	2,00 <sup>(α, a)</sup>	1,00 <sup>(β, a)</sup>	0,00 <sup>(σ)</sup>	p <sup>(1)</sup> < 0,001*
D	1,00 <sup>(α, b)</sup>	1,00 <sup>(α, a)</sup>	0,00 <sup>(β)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,001*
<b>Valor de p</b>	<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>	<b>p<sup>(2)</sup> &lt; 0,001*</b>	<b>p<sup>(2)</sup> = 1,000</b>	

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(1): Através do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre os tempos em cada grupo.

(2): Através do teste Kruskal-Wallis para a comparação entre os grupos em cada tempo.