



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

**Eva Maria de Morais Castanha**

**DEPOSIÇÃO DE BIOCERÂMICA PELO MÉTODO BIOMIMÉTICO EM CONES  
ENDODÔNTICOS DE GUTA-PERCHA**

**Campina Grande-PB**

**2013**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

**Eva Maria de Morais Castanha**

**DEPOSIÇÃO DE BIOCERÂMICA PELO MÉTODO BIOMIMÉTICO EM CONES  
ENDODÔTICOS DE GUTA-PERCHA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande, área de concentração: desenvolvimento de novos materiais-Biomateriais, como requisito final à obtenção do título de DOUTOR EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS.

**Orientador:** Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook

CAMPINA GRANDE-PB  
2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

C346d Castanha, Eva Maria de Moraes.  
Decomposição de biocerâmica pelo método biomimético em  
cones endodônticos de guta-percha / Eva Maria de Moraes Castanha.  
-- 2013.  
103 f. : il.

Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) -  
Universidade Federal de Campina Grande, Centro Ciências e  
Tecnologia.

"Orientação: Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook".  
Referências.

1. Guta-percha. 2. Endodontia. 3. Fosfato de Cálcio.  
I. Fook, Marcus Vinícius Lia. II. Título.

CDU 678.481(043)

**DEPOSIÇÃO DE BIOCERÂMICA PELO MÉTODO BIOMIMÉTICO EM CONES  
ENDODÔNTICOS DE GUTA-PERCHA.**

**EVA MARIA DE MORAIS CASTANHA**

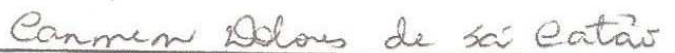
Tese Aprovada em 28/02/2013 pela banca examinadora constituída dos seguintes membros:



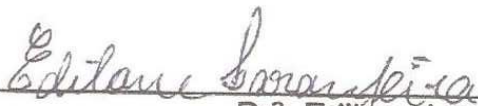
Dr. Marcus Vinicius Lia Fook  
(Orientador)  
UAEMA/UFCG



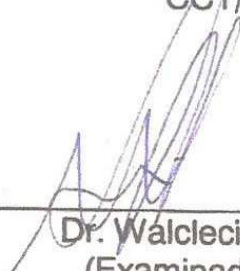
Dr.<sup>a</sup>. Renata de Souza Coelho Soares  
(Examinadora Externa)  
CCBS/UEPB



Dr.<sup>a</sup>. Carmem Dolores de Sá Catão  
(Examinadora Externa)  
UACB/CSTR/UFCG



Dr.<sup>a</sup>. Edilane Laranjeira  
(Examinadora Externa)  
CCT/UEPB

  
Dr. Walclecio Moraes Lira  
(Examinador Externo)  
CCBS/UEPB

## DEDICATÓRIA

Ào meu esposo e companheiro de 26 anos, Michael, que compreendeu minhas ausências e pacientemente esperou a conclusão deste trabalho. Estou voltando pra nós... Prometo.

Aos meus filhos; Thaynã e Arthur, que dão sentido a minha vida. A minha maior manifestação de amor.

À minha neta Mariah, uma criança encantadora que enche minha vida de luz, de amor e esperança. Um amor inexplicável e sem limites.

Ào Ciro (meu genro), pela alegria e felicidade que trouxe a nossas vidas.

À Korrana, minha nora (futura), que com sua meiguice logo nos conquistou. Obrigada pela contribuição no inglês e pelas palavras de incentivo.

Vivo por vocês!

À dona Assunção S. Rodrigues (fada madrinha), que em 1976 me pegou pela mão e me colocou dentro da escola (grupo escolar Prof. Antônio de Oliveira, Vila Paulistano: Campina Grande-PB).

Ào Prof. Marcus Vinicius Lia Fook, que tão bem me acolheu na UFCG no ano de 2006, e esteve ao meu lado durante toda a minha trajetória acadêmica (Mestrado e Doutorado).

Serei eternamente grata...

## AGRADECIMENTOS

*A Deus por me conceder a saúde, coragem e inspiração para realização de mais um sonho. Obrigado Senhor pela vida, pela família e pelos amigos.*

*Ao meu pai: Joaúcio de Moraes Castanha (em memória), sua presença sempre estará viva dentro de mim.*

*À minha mãe, mulher extraordinária, exemplo de força coragem e determinação. Mãe obrigada por tudo; sou sua fã.*

*À dona Norma (minha sogra), pelas constantes palavras de incentivo e Dr. Adhemar (meu sogro), pela importante participação na minha vida, e principalmente por ser a pessoa mais extraordinária e admirável que eu conheço.*

*Aos meus irmãos José Roberto (Di), Paulo, Joaúcio (Jó), José Rômulo e Antônio Alex (Toninho), pelo carinho e referência de família.*

*Às minhas irmãs Aparecida, Lúcia, Auxiliadora, Francisca e Rachel, pela confiança e principalmente pelo amor que me dedicam.*

*Especialmente agradeço à minha irmã Aparecida, pela importante participação na minha vida, à Lúcia por sempre me incentivar e pelas nossas tardes no consultório, e à Francisca, pelos momentos (roubados) de descontração nas nossas andanças mundo afora.*

*Aos meus sobrinhos (primeira e segunda geração), pela doçura da presença de cada um em minha vida. Amo vocês!*

*Aos meus cunhados (as), Heraldo, Lúcio, Fábio, Débora e Raquel. De uma forma muito especial agradeço a Heraldo pela importante participação na minha vida profissional.*

*Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook, que me conduziu a realização deste grande sonho.*

*Aos amigos do CERTBIO (Grupo de Biomateriais da UFCG), Vieira, Thiago, Rosemberg, Greyce, Glória, Carmem, Izabel, Anna Sílvia, Maria Eduarda, Waldênia, Adriana, Roberta Meira, Wladimir, Márcio, Klaydson, Rita, Ítalo, Imarally, João Paulo, Katilaine, Magna, Hugo, Emanuel, Leonardo, Natalia, Geanne, Mayara e Daniel pela boa convivência e incentivo. Agradeço à cada um que muito contribuíram para a realização deste trabalho.*

*Especialmente agradeço à Carol pela amizade e grande participação neste trabalho e por tudo que fez por mim ao longo desses anos. Obrigada amiga!*

*A Wladimir pela amizade e importante ajuda nas análises de DRX, e por estar sempre disposto a contribuir e ajudar.*

*À Gloria Tamires, pelos primeiros contatos com o SBF.*

*À Magna, pelas inúmeras vezes que preparou com tanto critério o SBF. Sempre sorrindo, feliz e de bem com a vida...*

*A Ítalo, pela atenção, presteza e boa vontade nas análises de FTIR.*

*A Thiago, pela importante contribuição na identificação das fases cristalinas e durante a conclusão deste trabalho.*

*À Emily, menina brilhante (acadêmica do curso de Medicina da UFCG), pela realização da microscopia. Sempre tornando as coisas simples... Obrigada!*

*À Rita de Cássia pela amizade e valiosa contribuição na organização gráfica deste trabalho.*

*Aos funcionários da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais, em especial a querida Jeane, Sr.º Sérgio, Sr.º Geraldo, Sr.º Ananias, Emanuel e Márcia.*

*Aos professores membros da banca examinadora, pela honra da presença e por compartilhar seus conhecimentos.*

*À UFCG e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais e aos queridos professores da pós-graduação pela valiosa contribuição.*

*À todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento e conclusão deste trabalho.*

*Minha eterna gratidão!*



*“Que nossos esforços desafiem as impossibilidades”*

*Charles Chaplin*

## RESUMO

O sucesso do tratamento endodôntico é determinado principalmente por uma obturação hermética e tridimensional do sistema de canais radiculares. O material obturador deve preencher todo o espaço antes ocupado pela polpa dentária, ser dimensionalmente estável e biologicamente compatível, proporcionando um ambiente favorável para que se processe a reparação tecidual. Os cones de guta-percha constituem o material comumente usado na obturação dos canais radiculares, no entanto, é um material bioinerte não contribuindo com a formação do tecido mineralizado, condição essencial para obtenção do sucesso clínico. O objetivo deste estudo foi modificar a superfície de duas marcas comerciais, de cones endodônticos de guta-percha (Dentsplay-DE e Tanari-TE), desenvolver um processo de bioatividade pelo método biomimético, visando favorecer a reparação apical pela deposição de tecido mineralizado por parte do organismo. Para a modificação da superfície dos cones de guta-percha foi realizado um tratamento químico prévio com o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) a 30%, nos tempos de 2, 4 e 6 horas, com o objetivo de alterar a polaridade da superfície e conseqüentemente sua tensão superficial, possibilitando melhores condições para deposição do filme biocerâmico pelo método biomimético nos períodos de 7 e 14 dias de imersão em solução SBF 1,5m. As técnicas de caracterização utilizadas neste estudo foram: Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X, (MEV/EDS), Difração de Raios X (DRX), Tensão Superficial (TS), Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), e a Biodegradação *in vitro*. Os resultados obtidos pelas análises de TS, MEV/EDS, DRX e FTIR, indicaram que a solução de  $H_2O_2$  a 30%, mostrou-se adequada como método de modificação da superfície dos cones de guta-percha DE e TE, pois possibilitou a formação de grupos funcionais hidrofílicos que funcionaram como sítios para a nucleação dos cristais de apatita pelo método biomimético. O ensaio de biodegradação mostrou que os cones de guta-percha DE e TE, apresentaram grande resistência à degradação frente às condições utilizadas neste trabalho.

**Palavras-chave:** Guta-percha, endodontia, Fosfato de cálcio.

## ABSTRACT

The success of an endodontic treatment is primarily related to the hermetic and three-dimensional obturation of the root canal system. The obturator material must occupy all the space of the removed pulp, be dimensionally stable and biologically compatible, providing a favorable environment to process of tissue repairing. Gutta-percha cones are the common material used on the obturation of the root canal filling, however, is a bioinerte material which doesn't contribute to the formation of mineralized tissue, essential condition to obtain clinical success. The aim of this study was to modify the surface of the Endodontic cones of gutta-percha and developing a bioactivity process by the Biomimetic method, favoring the apical repair for the deposition of the mineralized tissue by the organism. For the surface modification of gutta-percha cones was performed a prior chemical treatment with hydrogen peroxide at 30%, for times 2,4 and 6 hours in order to change the polarity of the surface and consequently it's surface tension allowing better conditions for bioceramic film deposition performed by Biomimetic method by two cycles of 7 and 14 days. The characterization techniques used in this study were: Surface tension (ST), the Scanning Electron Microscopy and Energy-dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDS), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), X-Ray Diffraction (XRD) and Degradation in simulated biological environment. The results obtained by ST, SEM-EDS, FTIR, XRD showed that the solution of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in 30% was adequate as method of modification of the surface of the cones DE and TE, it allowed the formation of functional hydrophilic groups which acted as sites for the nucleation and formation of apatite crystals by biomimetic method. The biodegradation test showed that the gutta-percha cones DE and TE exhibit great resistance to degradation under the conditions used in this work.

**Key Words:** Endodontic; gutta-percha; Biomimetic method.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Dentes esculpidos em conchas.....	24
Figura 2 - Representação dos dois componentes da macroestrutura óssea.....	34
Figura 3 - Partes do elemento dentário.....	37
Figura 4 - Configurações da unidade monomérica do isopreno - (cise trans).....	52
Figura 5 - Guta-percha nas fases alfa e beta e unidade estrutural do monômero isopreno.....	54
Figura 6 - Fluxograma da metodologia do trabalho.....	62
Figura 7 - Micrografia (MEV) das amostras dos cones de gutapercha DE antes do tratamento químico (1500X).....	72
Figura 8 - Micrografia (MEV) das amostras dos cones de gutapercha DE antes do tratamento químico (1500X).....	72
Figura 9 - Micrografias das amostras dos cones de gutapercha DE após o tratamento químico por: (a) 2h e (b) 4h e (c) 6h. (5000X).....	73
Figura 10 - Micrografias das amostras dos cones de gutapercha TE após o tratamento químico por: (a) 2h e (b) 4h e (c) 6h. (5000X).....	74
Figura 11 - Micrografias das amostras dos cones de gutapercha DE após tratamento químico por (a) 2 e (b) 4 e (c) 6 horas e a imersão em 1,5 SBF por 7 dias (5000X).....	75
Figura 12 - Micrografias das amostras dos cones de gutapercha TE após tratamento químico por (a)2,h(b)4h e(c) 6 horas e imersão em 1,5SBF por 7 dias. (5000X).....	76
Figura 13 - Micrografias das amostras dos cones de gutapercha DE após tratamento químico por (a) 2h,(b) 4h e (c) 6 horas e imersão em 1,5SBF por 14 dias. (5000X).....	77
Figura 14 - Micrografias das amostras dos cones de gutapercha TE após tratamento químico por (a) 2h e (b) 4h e (c) 6 horas e imersão em 1,5SBF por 14 dias. (5000X).....	78
Figura 15 - Espectros na Região do Infravermelho dos Cones de Guta-Percha. (a) Cone de Guta-Percha DE e (b) Cone de Guta-Percha TE.....	81

Figura 16 - Espectros do IV dos Cones de Guta-Percha DE (a) e TE (b), após o tratamento químico com peróxido de hidrogênio a 30% nos tempos de 2hs, 4hs e 6hs. ....	82
Figura 17 - Espectros de IV dos Cones de Guta-Percha DE (a) e TE (b) após o tratamento químico por 2, 4 e 6 horas e imersão na solução 1,5SBF por 7dias. ....	83
Figura 18 - Espectros de IV dos Cones de guta-percha DE(a) e TE(b) após o tratamento.....	84
Figura 19 - Difractogramas de raios X das amostras dos cones de guta percha (a) DE e (b) TE.....	86
Figura 20 - Difractogramas obtidos por DRX das amostras dos cones guta percha DE, após o tratamento químico por 2, 4 e 6 horas e a imersão em 1,5 SBF por 7 dias. ....	87
Figura 21 - Difractogramas obtidos por DRX das amostras dos cones guta percha TE, após o tratamento químico por 2, 4 e 6 horas e imersão em 1,5SBF por 7 dias. ....	88
Figura 22 - Difractogramas obtidos por DRX das amostras dos cones guta percha DE, após o tratamento químico por 2, 4 e 6 horas e a imersão em 1,5 SBF por 14 dias. ....	88
Figura 23 - Difractogramas obtidos por DRX das amostras dos cones guta percha TE, após o tratamento químico por 2, 4 e 6 horas e a imersão em 1,5 SBF por 14 dias. ....	89

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Razão Ca/P dos fosfatos de cálcio. ....	29
Tabela 2 - Relação entre os diversos fosfatos de cálcio e suas ocorrências em sistemas biológicos.....	32
Tabela 3 - Composição comparativa e parâmetros estruturais das fases inorgânicas de tecidos humanos adultos calcificados.....	40
Tabela 4 - Tabela da nomenclatura abreviada das amostras dos cones de gutapercha comerciais utilizados neste estudo. ....	61
Tabela 5 - Sequência e concentrações iônicas da solução SBF 1,0 1,5 utilizada (MMOL.dm-3) utilizadas neste trabalho para preparar 1L da solução .....	65
Tabela 6 - Frequências de absorção no IV características dos cones de gutapercha e dos fosfatos de cálcio.....	68
Tabela 7 - Ângulos e condições de molhamento. ....	69
Tabela 8 - Números das fichas padrões da base de dados ICDD utilizadas para identificar as fases de a apatita presentes. ....	70
Tabela 9 - Microanálise elementar por EDS do Cone DE a 2000x. ....	72
Tabela 10 - Microanálise elementar por EDS do Cone TE a 2000x.....	72
Tabela 11 - Microanálise elementar por EDS do Cone DE - 2hrs +1,5 SBF – 7 dias a 2000x.....	75
Tabela 12 - Microanálise elementar por EDS do Cone DE - 4hrs +1,5 SBF – 7 dias a 2000x.....	75
Tabela 13 - Microanálise elementar por EDS do Cone DE - 6hrs +1,5 SBF – 7 dias a 2000x.....	75
Tabela 14 - Microanálise elementar por EDS do Cone TE - 2hrs +1,5 SBF – 7 dias a 2000x.....	76
Tabela 15 - Microanálise elementar por EDS do Cone TE - 4hrs +1,5 SBF – 7 dias a 2000x.....	76
Tabela 16 - Microanálise elementar por EDS do Cone TE - 6hrs +1,5 SBF – 7 dias a 2000x.....	76
Tabela 17 - Microanálise elementar por EDS do Cone DE - 2hrs +1,5 SBF – 14 dias a 2000x.....	77

Tabela 18 - Microanálise elementar por EDS do Cone DE - 4hrs +1,5 SBF – 14 dias a 2000x.....	77
Tabela 19 - Microanálise elementar por EDS do Cone DE - 6hrs +1,5 SBF – 14 dias a 2000x.....	77
Tabela 20 - Microanálise elementar por EDS do Cone TE - 2hrs +1,5 SBF – 14 dias a 2000x.....	78
Tabela 21 - Microanálise elementar por EDS do Cone TE - 4hrs +1,5 SBF – 14 dias a 2000x.....	79
Tabela 22 - Microanálise elementar por EDS do Cone TE - 6hrs +1,5 SBF – 14 dias a 2000x.....	79
Tabela 23 - Valores do ângulo de contato das amostras DE e TE sem tratamento químico .....	85
Tabela 24 - Valores do ângulo de contato das amostras DE e TE após tratamento químico por 2, 4 e 6 horas com o peróxido de hidrogênio a 30% em massa. ....	87
Tabela 25 - Variação da perda de massa dos cones de guta-percha - PBS. ....	90
Tabela 26 - Variação da perda de massa dos cones de guta-percha – PBS/ Lisozima.....	90

## LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

%	Por cento
$\mu\text{m}$	Micrometro
Å	Angstrom
BaSO <sub>4</sub>	Sulfato de bário
BN	Borracha natural
Ca (OH) <sub>2</sub>	Hidróxido de Cálcio
Ca/P	Razão cálcio/fosforo
Ca <sup>2+</sup>	Cálcio
CERTBIO	Laboratório de Caracterização de Biomateriais
Cl <sup>-</sup>	Cloro
Cm	Centímetro
Cm <sup>-1</sup>	Comprimento de onda
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	Carbonato
DE	Dentsply Estande
DRX	Difração de Raios X
EDS	Espectroscopia por Dispersão de Energia de Raio X
F <sup>-</sup>	Flúor
FTIR	Espectroscopia na Região do IV com Transformada de
Fourier	
GP	Guta-percha
H	Hora
H <sub>2</sub> O	Água
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
HA	Hidroxiapatita
Hap Carb A	Hidroxiapatita carbonatada tipo A
Hap Carb B	Hidroxiapatita carbonatada tipo B
Hap D	Hidroxiapatita Deficiente em cálcio
M	Molar
MCPM	Fosfato Monocálcico
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
Mg <sup>2+</sup>	Magnésio



mm	Milímetro
Na <sup>+</sup>	Sódio
Nm	Nanômetro
°C	Graus Celsius
OCP	Fosfato octacálcico
OH-	Hidroxila
P	Fosforo
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i> - Tampão fosfato salino
pH	Potencial hidrogeniônico
PO <sub>3</sub> <sup>-4</sup>	Fosfato
SBF	Simulated Body Fluid
T	Temperatura
TE	Tanari Estande
TS	Tensão Superficial
ZnO	Óxido de zinco
ZOE	Óxido de zinco e eugenol
α	Alfa
β	Beta
Θ	Theta

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>20</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>23</b>
2.1	OBJETIVO GERAL	23
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
<b>3</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>24</b>
3.1	BIOMATERIAIS	24
<b>3.1.1</b>	<b>Classificação dos Biomateriais</b>	<b>26</b>
3.2	BIOCERÂMICAS	27
3.3	BIOCERÂMICAS DE FOSFATO DE CÁLCIO (APATITAS)	27
<b>3.3.1</b>	<b>Hidrogenofosfato de Cálcio Dihidratado (DCPD)</b>	<b>30</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Hidrogenofosfato de Cálcio Anidro (DCPA)</b>	<b>30</b>
<b>3.3.3</b>	<b>Fosfato de Cálcio Amorfo (ACP)</b>	<b>30</b>
<b>3.3.4</b>	<b>Fosfato Octacálcico (OCP)</b>	<b>31</b>
<b>3.3.5</b>	<b>Hidroxiapatita (HA)</b>	<b>31</b>
<b>3.3.6</b>	<b>Apatitas biológicas</b>	<b>32</b>
3.4	ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO DO TECIDO ÓSSEO	33
<b>3.4.1</b>	<b>Remodelação do Tecido Ósseo</b>	<b>35</b>
3.5	ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO DO TECIDO DENTÁRIO	36
<b>3.5.1</b>	<b>Esmalte Dentário</b>	<b>37</b>
<b>3.5.2</b>	<b>Dentina</b>	<b>38</b>
<b>3.5.3</b>	<b>Polpa Dental</b>	<b>40</b>
3.5.3.1	Odontoblastos	41
3.5.3.2	Fibroblastos	41
3.5.3.3	Células Ectomesenquimais Indiferenciadas	41
3.5.3.4	Macrófagos	42

<b>3.5.4</b>	<b>Cimento Dental</b> .....	<b>42</b>
<b>3.5.5</b>	<b>Região Periapical ou Periápice</b> .....	<b>43</b>
3.6	ALTERAÇÕES PULPARES .....	43
3.7	TRATAMENTO ENDODÔNTICO.....	44
<b>3.7.1</b>	<b>Obturação do Sistema de Canais Radiculares</b> .....	<b>45</b>
3.8	CEMENTOS ENDODÔNTICOS OBTURADORES .....	46
<b>3.8.1</b>	<b>Cimentos a Base de Óxido de Zinco e Eugenol (ZOE)</b> .....	<b>47</b>
<b>3.8.2</b>	<b>Cimentos a Base de Hidróxido de Cálcio</b> .....	<b>48</b>
3.8.2.1	Características Químicas do Hidróxido de Cálcio.....	48
3.8.2.2	Mecanismo de Ação do Hidróxido de cálcio .....	49
3.9	GUTA-PERCHA COMO MATERIAL OBTURADOR ENDODÔNTICO ....	51
<b>3.9.1</b>	<b>Histórico</b> .....	<b>51</b>
<b>3.9.2</b>	<b>Características da Guta-percha</b> .....	<b>51</b>
3.10	MODIFICAÇÕES DE SUPERFÍCIE .....	55
<b>3.10.1</b>	<b>Tratamento químico</b> .....	<b>57</b>
<b>3.10.2</b>	<b>Método Biomimético</b> .....	<b>58</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODO</b> .....	<b>60</b>
4.1	LOCAL DA PESQUISA .....	60
4.2	MATERIAIS.....	60
<b>4.2.1</b>	<b>Tratamento Químico</b> .....	<b>61</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Método Biomimético</b> .....	<b>61</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Ensaio de Degradação enzimática</b> .....	<b>61</b>
<b>4.3</b>	<b>MÉTODO</b> .....	<b>61</b>
<b>4.3.1</b>	<b>Preparação das amostras</b> .....	<b>63</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Tratamento Químico</b> .....	<b>63</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Processo Biomimético</b> .....	<b>63</b>
4.3.3.1	Cuidados adotados durante a preparação da solução SBF .....	63

4.3.3.2	Preparação da solução SBF e Recobrimento das amostras .....	64
4.4	TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO .....	66
4.4.1	<b>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....</b>	<b>66</b>
4.4.2	<b>Espectroscopia por Dispersão de Energia de Raios X (EDS) .....</b>	<b>67</b>
4.4.4	<b>Análise de Molhabilidade .....</b>	<b>68</b>
4.4.5	<b>Difratometria de Raios X (DRX).....</b>	<b>69</b>
4.4.6	<b>Ensaio <i>in vitro</i> de Biodegradação Enzimática.....</b>	<b>71</b>
5	<b>RESULTADOS e DISCUSSÃO .....</b>	<b>72</b>
5.1	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA ESPECTROSCOPIA POR ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS X (MEV/EDS).....	72
5.3	ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR) .....	81
5.4	TENSÃO SUPERFICIAL/ MOLHABILIDADE .....	85
5.5	DIFRAÇÃO DE RAIOS X .....	86
5.6	BIODEGRADAÇÃO ENZIMÁTICA.....	90
6	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>92</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>94</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico, em geral, se caracteriza pela remoção de todo tecido pulpar inflamado e/ou infectado, substituindo-o por um material obturador adequado. Este tratamento é constituído por várias etapas, todas igualmente importantes, contudo a fase da obturação tem merecido uma atenção especial por parte de profissionais e pesquisadores, visto que os insucessos estão relacionados com restaurações insatisfatórias (DE DEUS, 1992; BROSCO, 2002; LOPES; SIQUEIRA JUNIOR, 2004). A obturação hermética e tridimensional do sistema de canais radiculares impede a passagem de microrganismos que, por ventura tenham escapado ao tratamento químico/mecânico e possam proliferar voltando a irritar a região periapical, levando à reinfecções, diminuindo assim a perspectiva de se obter sucesso clínico (FERREIRA et al., 2005; BROSCO, 2002; FERREIRA, 2007).

Deste modo, o propósito da obturação do canal radicular é eliminar vias de inflamação oriundas da cavidade bucal ou da região periapical para o interior do canal radicular, que poderiam contribuir com a proliferação de bactérias. A principal forma de suprimentos de substratos para bactérias na região apical e periapical se dá pela percolação de líquidos oriundos dos tecidos perirradiculares via forame apical, e pelo espaço existente entre o material obturador e as paredes do canal. Esses fluidos contêm principalmente glicoproteínas que servem de nutrição para diferentes tipos de bactérias (BROSCO, 2002; GURGEL FILHO et al., 2003).

A obturação adequada promove o aprisionamento destas bactérias e toxinas remanescentes dos tecidos necrosados evitando, entre outros fatores, irritações nesta região. O selamento apical, proporcionado pela obturação, é um pré-requisito fundamental para o sucesso do tratamento endodôntico, do contrario o processo de reparo periapical terá dificuldade de evoluir se no terço apical surgirem espaços na obturação, pois assim ao invés da neoformação de tecido mineralizado, haverá formação de tecido granulomatoso oriundo de um processo inflamatório crônico (ESTRELA; HOLLAND, 2003; DEONIZIO et al., 2003; CHNG et al., 2005).

Um canal vazio, mesmo estéril, atua como um tubo de ensaio coletando para seu interior, líquidos tissulares e exsudato inflamatório originado na região em torno do ápice, esses líquidos ao encontrarem um ambiente favorável a estagnação vão se decompondo gerando produtos tóxicos e irritantes aos tecidos periapicais (DE DEUS, 1992; LOPES; SIQUEIRA JUNIOR, 2004). A obturação do sistema de canais radiculares representa então, o desfecho de um conjunto de procedimentos que visam recuperar o elemento dentário, restituindo sua função mastigatória e a manutenção da saúde dos tecidos apicais e periapicais (LEONARDO; LEAL, 2005).

Como o material obturador entrará em contato com tecidos vivos, este deve apresentar propriedades biocompatíveis de modo a não prejudicar e se possível, estimular o processo de reparação tecidual por meio da deposição de tecido mineralizado, sendo esta considerada a resposta ideal após a realização do tratamento endodôntico. Vários materiais obturadores foram utilizados ao longo do tempo, porém, muitos descartados por não serem práticos ou biologicamente incompatíveis (DE DEUS, 1992; CAMPS; ABOUT, 2003; LOPES; SIQUEIRA JUNIOR, 2004; LEONARDO; LEAL, 2005).

As técnicas de obturação atuais utilizam em geral a guta-percha, na forma de cones, associado a um cimento endodôntico que age como uma espécie de cola reduzindo a interface entre os cones de guta-percha e entre estes e as paredes do canal. A verdadeira guta-percha é uma substância vegetal que pode ser obtida pela coagulação do látex de árvores da família das sapotáceas do gênero *Palaquium*, existente principalmente nas regiões de Borneo, Nova Guiné e Malásia (SCHILDER; GOODMAN; ALDRICH, 1985; LEONARDO; LEAL, 1998; GURGEL FILHO, 2002).

Pesquisas recentes tem demonstrado grande interesse por materiais bioativos que possam favorecer a reconstituição e reparação do tecido ósseo. As biocerâmicas de fosfato de cálcio pertencem a uma classe de biomateriais que se destacam como matrizes de reconstituição óssea, participando no processo dinâmico de formação e reabsorção que se produz no tecido ósseo durante o período de reparação (APARECIDA, 2008). Estas propriedades estão associadas às características de biocompatibilidade e bioatividade apresentada por estes materiais e pela similaridade química com a fase mineral do osso, dentina e esmalte dentário. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi desenvolver um

processo de bioatividade em cones endodônticos de guta-percha modificando sua superfície através do tratamento químico com o peróxido de hidrogênio e o recobrimento com um filme biocerâmico pelo do método biomimético buscando torná-lo bioativo, a fim de melhorar suas características e favorecer o processo de reparação apical, pela estimulação da deposição de tecido mineralizado por parte do organismo.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um processo de bioatividade em cones endodônticos de guta-percha.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver técnicas de modificação de molhabilidade da superfície dos cones endodônticos de guta-percha;
- Avaliar a influencia do tempo de imersão (7 e 14 dias) em solução sintética de composição iônica semelhante a do plasma sanguíneo (SBF- *Simulated Body Fluid*), na deposição do filme biocerâmico.
- Avaliar a biodegradabilidade *in vitro* em meio biológico simulado após a modificação superficial pelo tratamento químico.

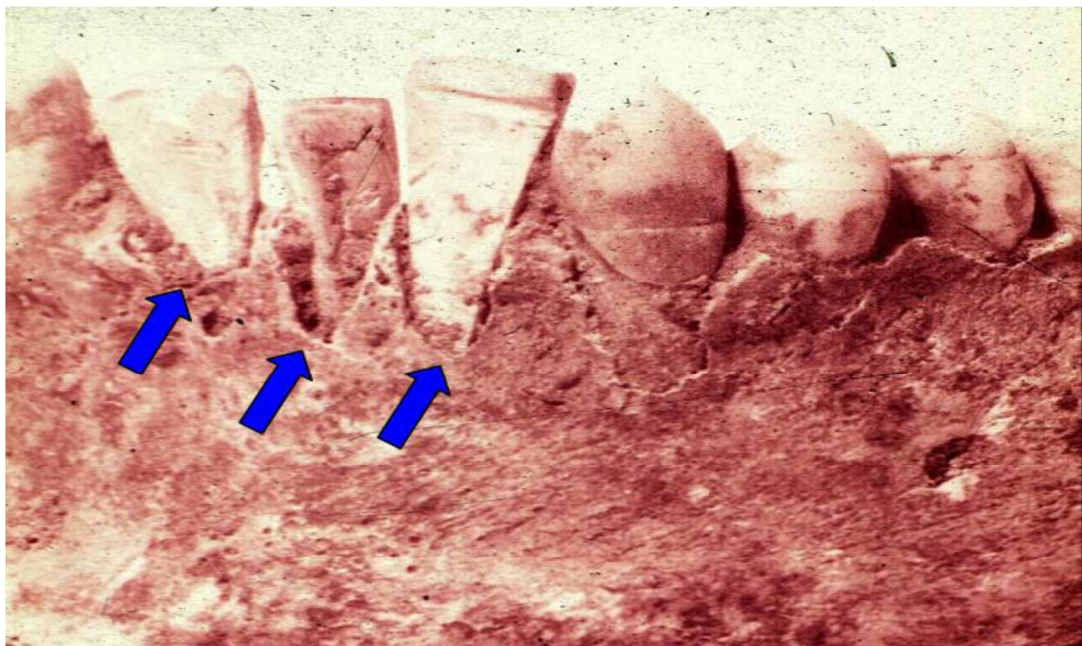


### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 BIOMATERIAIS

Achados arqueológicos comprovaram que é antiga a preocupação do homem em restaurar ou substituir partes danificadas do seu corpo bem como os dentes perdidos. Os maias já produziam dentes obtidos de conchas do mar que datam de 600 anos depois de cristo (RING, 1995a) (Figura 1), e o ouro já teria sido usado na odontologia pelos astecas, romanos e chineses no ano seis (RATNER et al., 2004). Apesar de terem sido usados desde a antiguidade, só após a segunda guerra mundial e com os conhecimentos da ciência dos materiais é que houve um avanço significativo no desenvolvimento dos biomateriais. Nas últimas décadas, novos materiais foram descobertos e outros já conhecidos estão sendo confeccionado com maior qualidade e elevado desempenho funcional como resultado do entendimento ou domínio das condições e controle dos processos de fabricação que vem sendo alcançados na engenharia de materiais. Atualmente se espera que um biomaterial atue como uma plataforma para diferenciação celular e posterior neoformação de tecidos (GIL et al., 2009).

Figura 1 - Dentes esculpidos em conchas.  
(As setas indicam conchas esculpidas substituindo dentes perdidos)



Fonte: Ring (1995a)

Um biomaterial pode ser definido, em um sentido mais amplo, como qualquer substância ou combinação de substâncias, exceto drogas ou fármacos, que possa ser usado durante qualquer período de tempo como parte de um sistema que trata, aumenta ou substitui tecidos, órgãos, ou partes danificadas do corpo. Assim, biomaterial é um material biocompatível, natural ou sintético, usado na medicina e caracterizado por interagir com sistemas biológicos (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006).

A principal diferença entre um biomateriais e outras classes de materiais é a sua capacidade de permanecer em um ambiente biológico sem danificar o meio e sem ser danificado por este (DOROZHKIN, 2007).

A escolha do biomaterial é determinada pela aplicação clínica a qual o mesmo se destina. Em aplicações odontológicas, os materiais são componentes estruturais (raiz de um dente perdido) ou são usados para reparação ou regeneração de defeitos ósseos (PARK, 2008). Praticamente todos os materiais utilizados clinicamente na odontologia necessitam satisfazer entre outros requisitos: biocompatibilidade; biofuncionabilidade e resistência à corrosão, devido às características do meio. A biocompatibilidade é um termo que vem sendo usado há muitos anos, cujo significado tem evoluído paralelamente ao conceito de biomaterial. Pode ser definida como sendo a propriedade relativa à capacidade de um biomaterial e de seus produtos de degradação serem aceitos ou tolerados pelos tecidos adjacentes, sem causar dano ao organismo a curto ou longo prazo. Em relação à resposta do tecido receptor, a biocompatibilidade compreende todas as reações e efeitos entre o material implantado e o corpo humano (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006).

Existe uma série de reações biológicas que podem ocorrer quando um material é colocado em contato com um tecido vivo. Estas reações podem se manifestar a nível local ou sistêmico. As reações sistêmicas são de grande importância, pois nem sempre é evidente que seus sintomas clínicos possam estar relacionados com o uso de um biomaterial. A partir da análise microscópica dos tecidos, as reações ou respostas são classificadas como tóxicas, inflamatórias, alérgicas e até mutagênicas (ESTRELA; HOLLAND, 2003; RATNER et al., 2004)

De acordo com os diferentes níveis de biocompatibilidade observados pode-se entender que nenhum material é completamente inerte ou aceito pelo

organismo, todos induzem uma resposta do tecido hospedeiro e as reações induzidas podem variar conforme as características desse material. A biocompatibilidade é considerada satisfatória quando for capaz de promover a formação de tecido normal na sua superfície, além de estabelecer com o meio biológico adjacente uma interface adequada para uma aplicação específica (SYKARAS et al., 2000).

As reações do hospedeiro ao biomaterial são determinadas fundamentalmente pelas propriedades de sua superfície. Portanto, controlar as características de superfície dos biomateriais significa controlar a resposta biológica, já que as reações que ocorrem na interface dependem da morfologia, da topografia e da composição química desta superfície. A biofuncionabilidade é o conjunto de propriedades que permite ao material desempenhar a função desejada, devendo apresentar características funcionais adequadas para cumprir com êxito a função a qual se destina como se fosse o próprio organismo (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006).

### **3.1.1 Classificação dos Biomateriais**

Os biomateriais podem ser classificados quanto à resposta biológica e composição química. De acordo com o comportamento biológico nos tecidos do hospedeiro, os principais tipos são: biotolerados, bioinertes e bioativos. Materiais biotolerados são aqueles que não são necessariamente rejeitados pelo corpo, mas não permitem a aposição óssea e quando implantados são envolvidos por uma camada de tecido fibroso sendo a espessura dessa camada inversamente proporcional à inércia do material. Exemplos: Ouro, Ligas Co-Cr, Aço Inoxidável, Nióbio, Tântalo, Polietileno, Poliamida, Polimetilmetacrilato, Poliuretano. Os materiais bioinertes exercem uma influência muito pequena para os tecidos vivos que os circundam e permitem a osteogênese de contato ou aposição óssea. Exemplos: Titânio e ligas de titânio. Já os materiais bioativos, são aqueles que além de permitirem a formação de um novo osso sobre a sua superfície, promovem uma troca de íons, formando uma união química ao longo da interface com o tecido vivo adjacente, chamada de bioadesão. Exemplos: hidroxiapatita e

algumas cerâmicas de fosfato de cálcio, entre outros (STRNAD et al., 2000; SYKARAS et al., 2000)

### 3.2 BIOCERÂMICAS

As cerâmicas são materiais formados por elementos metálicos e não metálicos unidos por ligações iônicas e/ou covalentes. O uso de novas cerâmicas com propriedades específicas para aplicação biomédica vem crescendo desde 1970. As cerâmicas de um modo geral apresentam algumas vantagens quanto a aplicações nas áreas médica e odontológicas devido à sua biocompatibilidade e resistência química, pois sendo um material bioativo permite uma resposta biológica específica na interface com o tecido vivo possibilitando uma ligação entre ambos. Vários estudos têm sido desenvolvidos no sentido de compreender aspectos importantes relacionados com seu comportamento *in vivo* e da interface fosfato de cálcio/soluções iônicas. Estes estudos têm por objetivo investigar o desempenho das biocerâmicas quando em contato com os fluidos corpóreos e, finalmente estudar aspectos relacionados às variações da estrutura cristalina e da composição destes materiais, representados principalmente pela razão Ca/P, cristalinidade e presença de outros íons além dos íons cálcio e fosfato (KAWACHI et al., 2000).

### 3.3 BIOCERÂMICAS DE FOSFATO DE CÁLCIO (APATITAS)

As biocerâmicas de fosfatos de cálcio são constituídas por diferentes composições e amplamente investigadas na área de biomateriais. Apatita é um termo genérico de um importante grupo de minerais cuja composição geral é o fosfato de cálcio. Esses compostos possuem estrutura similar, mas não necessariamente a mesma composição. Na literatura, o termo apatita é usado para se referir à fluorapatita, sendo identificada como o componente mineral do osso. A fase mineral dos ossos e dentes tem função estrutural além de conceder estabilidade funcional ao esqueleto, atuando também como uma região de estoque de íons cálcio, fósforo, sódio, carbonato, dentre outros, e fornecê-los aos fluidos biológicos mantendo-os em níveis necessários para um perfeito

funcionamento do organismo(ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006; SUL; BYON; JEONG, 2004).

As apatitas têm vários sítios cristalográficos diferentes onde trocas atômicas podem ocorrer e muitos elementos com cargas iônicas diferentes podem ser acomodados nessas posições. A habilidade da rede da apatita em aceitar substituintes é enorme. Dentre os substituintes reportados em ossos e dente estão entre outros o cálcio, fósforo, flúor, cloro, sódio e magnésio. A estrutura da apatita permite substituições catiônicas para o cálcio e aniônicas para os grupos  $\text{PO}_4^{3-}$  e/ou  $\text{OH}^-$ . Essas substituições que ocorrem na estrutura da apatita, normalmente resultam em alterações de suas propriedades como: solubilidade, morfologia parâmetro de rede, e a resposta celular e do tecido ao material, porém sem mudanças significativas da simetria hexagonal. Por exemplo, a incorporação de íons carbonato,  $\text{CO}_3^{2-}$ , na estrutura da HA, dá origem à hidroxiapatita carbonatada e esse íon pode ser incorporado por meio de dois sítios,  $\text{PO}_4^{2-}$  substituição do tipo B e  $\text{OH}^-$  do tipo A. As apatitas carbonatada do tipo A são encontrados tipicamente em osso velho, enquanto que a do tipo B é mais abundante no osso jovem sendo semelhante à apatita encontrada no esmalte dentário(AOKI, 1991; LEGEROS, 2002).

As cerâmicas de fosfatos de cálcio tem merecido lugar de destaque entre as denominadas biocerâmicas por apresentarem excelente biocompatibilidade sendo bem aceitas e bem integradas pelo corpo humano, ausências de toxicidade local ou sistêmica, não induzindo qualquer reação inflamatória, imunológica ou tóxica quando utilizadas, e aparente habilidade em se ligar ao tecido hospedeiro. Não apresentam riscos de transmissão de patologias nem de degradação proteica e podem ser usadas nas formas de grânulos, blocos densos e porosos, cimentos, revestindo cerâmicas, metais e polímeros. Tais características positivas podem ser explicadas pela natureza química destes materiais que sendo formados basicamente por íons cálcio e fosfato participam ativamente do equilíbrio iônico entre o fluido biológico e a biocerâmica. (KAWACHI et al., 2000; APARECIDA, 2006).

A síntese dos fosfatos de cálcio envolve vários métodos como precipitações em soluções aquosas (via úmida), reações no estado sólido (via seca), métodos hidrotérmicos e processo sol-gel. Uma forma apropriada de classificar os vários tipos de fosfato de cálcio para aplicações biológicas é através

de sua relação atômica entre os átomos de cálcio e fósforo (razão molar Ca/P), que varia de 0,5 a 2,0, conforme mostra a Tabela 1. A razão Ca/P pode influenciar na resposta do hospedeiro. Quando a razão estequiométrica é determinada é possível prever o comportamento *in vitro* e *in vivo* e até estabelecer uma aplicação específica em função da taxa de absorção. E essas diversidades conduzem seu emprego a aplicações biomédicas principalmente em tecidos mineralizados devido a sua similaridade química com a fase mineral dos ossos e dentes humanos (THOMAZINI, 2009).

Tabela 1 - Razão Ca/P dos fosfatos de cálcio.

Fosfato de cálcio	Formula Química	Razão Ca/P
Fosfato tetracálcico (TeCP)	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$	2,0
Hidroxiapatita (HÁ)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	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 (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 (DCP)	$\text{CaHPO}_4$	1,0
Mono-hidrogênio fosfato de cálcio di-hidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
Pirofosfato de cálcio (CPP)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	1,0
Pirofosfato de cálcio di-hidratado (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)	$\text{Ca}_2\text{H}_2\text{P}_6\text{O}_{20}$	0,67
Fosfato monocalcicomono-hidratado (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,5
Metafosfato de cálcio ( $\alpha, \beta, \gamma$ ) (CMP)	$\text{Ca}(\text{PO}_2)_2$	0,5

Fonte: Aoki (1991)

Entre os fosfatos de cálcio mais importantes para aplicações biomédicas alguns se destacam como: o hidrogenofosfato de cálcio dihidratado ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , DCPD), hidrogenofosfato de cálcio anidro ( $\text{CaHPO}_4$ , DCPA), fosfato de cálcio amorfo (ACP), fosfato octacálcico ( $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , OCP) e a hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , HA). Além disso, esses fosfatos tem sido identificados como as principais fases que se precipitam em soluções aquosas (LEGEROS, 2002).

### 3.3.1 Hidrogenofosfato de Cálcio Dihidratado (DCPD)

O DCPD,  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , se encontra na natureza como o mineral bruxita e pode ser obtido normalmente em soluções de fosfatos de cálcio ligeiramente ácidas à temperatura ambiente. O DCPD pode se converter em DCPA quando exposto a uma temperatura superior a  $80\text{ }^\circ\text{C}$ . Uma das suas principais aplicações é revestir implantes metálicos utilizados na área ortopédica e, na forma de cimentos de fosfatos de cálcio, ele também pode ser utilizado na área odontológica. Autores como Lu e Leng (2005) observaram que esta fase tem sido encontrada como fase precursora da HA. Esta fase é geralmente encontrada em calcificações patológicas como cálculo dental e urinário (DOROZHKIN; EPPLE, 2002; RESENDE, 2007).

### 3.3.2 Hidrogenofosfato de Cálcio Anidro (DCPA)

O DCPA, de fórmula  $\text{CaHPO}_4$ , existe na natureza como o mineral monetita. Não aparece em cálculos dentários ou em outras calcificações patológicas, entretanto foi relatado a sua presença em análise por DRX de fraturas e possivelmente no osso. A monetita é pouco aplicada biologicamente, porém a sua maior utilização é na obtenção de novas fases de fosfato de cálcio, principalmente a hidroxiapatita, partindo apenas dela, ou da reação desta com outros fosfatos, sendo utilizada também como um dos componentes dos cimentos ortopédicos baseados em fosfatos de cálcio (MARQUES, 2003).

### 3.3.3 Fosfato de Cálcio Amorfo (ACP)

O fosfato de cálcio amorfo pode ser precipitado em soluções aquosas supersaturadas contendo íons, cálcio e fósforo, a pH neutro ou alcalino, uma fase amorfa metaestável forma-se rapidamente nos estágios iniciais da reação, depois de precipitado, o ACP também se converte em HA ou OCP. Esta fase é conhecida como fosfato de cálcio amorfo a qual corresponde em composição a hidroxiapatita deficiente em cálcio. Apresenta-se na forma de partículas esféricas de 30 a 100nm, que resultam de aglomerados de pequenas partículas. Quanto à sua estrutura cristalina, ainda existem muitas controvérsias, sendo, portanto,

considerada uma fase difícil de ser caracterizada, principalmente porque se forma em várias soluções com composições variadas. Embora não pareça existir em quantidade detectável nos tecidos duros dos vertebrados, o ACP tem sido encontrado em muitos sistemas biológico (APARECIDA, 2006).

#### **3.3.4 Fosfato Octacálcico (OCP)**

O OCP, de fórmula  $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , (a quantidade de água pode variar). Consiste de camadas apatíticas com arranjo atômico dos íons cálcio e fósforo similar ao da HA, separadas por camadas hidratadas. Esta fase foi descoberta por Berzelius em 1836, contudo a sua existência só foi aceita no final do século XX e a sua importância só foi observada no final da década de 50 (APARECIDA, 2006). Acredita-se que o OCP desempenhe o papel de precursor da HA na mineralização óssea, como fase intermediária na precipitação da HA sintética e na formação de apatitas biológicas, já que nucleia e cresce mais rápido que a HA devido a sua similaridade com essa fase, bem como a facilidade com que o OCP se transforma em HA. Alguns estudos sugerem a presença de OCP em dentes e ossos. No mecanismo de formação do esmalte dentário, o OCP é a fase metaestável. Em análises da matriz do esmalte dentário o OCP surge durante a fase de mineralização. Implantes de OCP tem sido utilizados, na forma de grânulos ou como revestimento de implantes, por facilitar o processo de formação óssea e promover o reparo de defeitos críticos no osso (APARECIDA, 2006; RESENDE, 2007; LIU et al., 2007).

#### **3.3.5 Hidroxiapatita (HA)**

A hidroxiapatita (HA) é o fosfato de cálcio mais amplamente utilizado como biocerâmica. Essa cerâmica é termodinamicamente estável em temperatura e pH fisiológico e participa ativamente das ligações ósseas, formando forte ligação química com o tecido ósseo. A similaridade química com a fase mineral dos tecidos ósseos tornou a hidroxiapatita um dos materiais mais conhecidos e muito estudado. A superfície da hidroxiapatita permite a interação de ligações do tipo dipolo, fazendo com que moléculas de água e também, proteínas e colágeno



sejam adsorvidos na superfície induzindo assim, a regeneração tecidual (SALEH *et al.*, 2004). Contudo, além da HA, outros fosfatos de cálcio também ocorrem em calcificações normais e patológicas, conforme Tabela 2, o que vem despertando interesse significativo nas possibilidades de uso destes materiais como biocerâmica. As calcificações normais e patológicas nos mamíferos consistem em um fosfato de cálcio íon substituído. No osso podemos encontrar fosfato de cálcio tanto na forma cristalina como na forma amorfa. A presença da fase amorfa pode causar um aumento na taxa de dissolução em razão de sua maior solubilidade (DOROZHKIN; EPPLE, 2002; APARECIDA, 2006).

A Tabela 2 relaciona diversos fosfatos de cálcio e suas ocorrências em sistemas biológicos.

Tabela 2 - Relação entre os diversos fosfatos de cálcio e suas ocorrências em sistemas biológicos.

<b>Fosfato de cálcio</b>	<b>Formula química</b>	<b>Razão Ca/P</b>	<b>Ocorrências</b>
Apatita	$(Ca,Z)_{10}(PO_4Y)_6(OH,X)_2$ Z=Mg <sup>2+</sup> , Ba <sup>2+</sup> , Y= HPO <sub>4</sub> , CO <sub>3</sub> , X=Cl-F-	Varia com Z e Y	Esmalte, dentina, osso, calculo dentário e urinário, calcificação de tecidos moles.
Fosfato octacálcico (OCP)	Ca <sub>8</sub> .H <sub>2</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> .5H <sub>2</sub> O	1,33	Cálculos dentários e urinários.
Monohidrogeno fosfato de cálcio dihidratado (DCPD)	Ca.HPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	1,0	Cálculos dentários, osso decomposto.
Fosfato tricálcico (TCP)	Ca <sub>3</sub> .(PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	1,5	Calculo dentário e salivar, cárie dentária e calcificação de tecidos moles
Pirofosfato de cálcio dihidratado (CPPD)	Ca <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> .2H <sub>2</sub> O	1,0	Depósito de pseudo gotas em fluidos

Fonte: Kawachiet al., (2000).

### 3.3.6 Apatitas biológicas

A hidroxiapatita (HA) foi identificada como sendo o componente mineral do osso pela primeira vez em 1926. De Jong realizou o primeiro estudo de Difração de raios X (DRX) do osso e identificou que a fase inorgânica assemelhava-se às estruturas minerais chamadas de apatitas (CHAI; BEN-NISSAN, 1999).

As apatitas biológicas são essencialmente hidroxiapatita carbonatada contendo entre 4 e 8% de carbonato, associados com outros elementos que correspondem à parte inorgânica dos tecidos calcificados (esmalte, dentina e ossos) e se caracterizam por seus cristais nanométricos, baixa cristalinidade, não estequiometria e várias substituições iônicas, o que as diferenciam daquelas obtidas por métodos sintéticos. Nenhuma apatita biológica apresenta a relação Ca/P estequiométrica, mas todas elas tendem à relação estequiométrica durante os estágios de maturação e envelhecimento (LEGEROS, 2002).

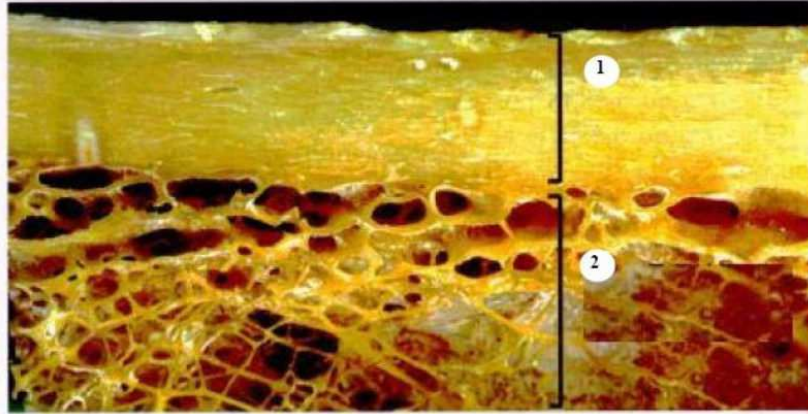
### 3.4 ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO DO TECIDO ÓSSEO

O osso é um tipo de tecido conjuntivo altamente especializado cuja matriz extracelular é calcificada, caracterizado por sua rigidez e dureza. Apesar de ser uma das substâncias mais duras do corpo, o osso é um tecido dinâmico, que muda constantemente de forma em relação às tensões aplicadas sobre ele. As tensões levam a sua reabsorção e a tração leva ao desenvolvimento de um novo osso. Histologicamente o tecido ósseo existe sob duas formas: osso imaturo ou primário (*woven bone*) e osso maduro, secundário ou lamelar. O osso imaturo é um osso primitivo formado durante o desenvolvimento fetal, e durante a reparação do tecido ósseo, possuindo uma organização irregular das fibras colágenas. As células se arranjam desordenadamente e a calcificação se dá de forma irregular sendo gradualmente substituído pelo osso lamelar organizado, ou osso secundária sendo a matriz deste, mais calcificada e mais forte do que a do osso primário (GARTNER; HIATT, 2003).

Os ossos variam na forma, tamanho e posição topográfica, havendo varias maneiras de classificá-los. A mais comum é aquela que divide o esqueleto ósseo em osso cortical e osso trabecular. De maneira geral, aproximadamente 80% do esqueleto consiste em osso compacto e 20% em osso esponjoso. Entre 75-95% do volume do osso esponjoso é constituído por poros interconectados e é preenchido com medula óssea. O osso esponjoso possui uma porosidade considerada alta, de 30 a 90%, sendo capaz de suportar tensões e pressões antes de fraturar (TORTORA; GRABOWSKI, 2002; RODRIGUES, 2003; VEDI et al., 2003; BARROS et al., 2008).

A Figura 2 apresenta os dois componentes integrados em hierarquias macroestruturais distintas: osso cortical e osso esponjoso.

Figura 2 - Representação dos dois componentes da macroestrutura óssea.



1) Osso cortical. 2) Osso trabecular.  
Fonte: Lynch; Genco; Marx, 1999.

O osso cortical desempenha as funções mecânicas e protetoras enquanto que o osso trabecular desempenha as funções metabólicas. Este último possui uma grande área de superfície, apresentando baixa resistência mecânica. O osso tem como principais componentes uma fase mineral inorgânica formada por íons cálcio ( $\text{Ca}_2^+$ ) e fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) na forma de cristais de hidroxiapatita [ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ], com dimensão  $5 \times 20 \times 40 \text{ nm}$  representando 65% do peso do osso seco. A dureza deste material é cerca de dois terços da dureza do aço, é bastante quebradiço, tem pouca resistência ao desgaste e fratura facilmente. Os sais presentes no tecido ósseo são responsáveis pela dureza e rigidez do osso (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; FERNANDEZ-TRESGUERRES-HERNENDEZ-GIL et al., 2006; ELIAS; LIMA, 2001; OLSZTA et al., 2007).

A outra fase presente é a orgânica representando 35% do peso do osso, incluindo as fibras que são quase exclusivamente de colágeno do tipo I. O colágeno corresponde a 95% do componente orgânico, comportando-se como um material de elevada resistência à fratura, constituído principalmente por uma proteína denominada de colágeno do tipo I, a mais abundante no ser humano, e uma pequena quantidade de proteoglicanas e glicoproteínas (ELIAS; LIMA, 2001; OLSZTA et al., 2007). Cerca de 15% da matriz orgânica contém é composta por osteócitos (células achatadas na superfície do osso chamadas de células de revestimento); osteoclastos (células de reabsorção que dissolvem os minerais e

digerem a matriz óssea); e osteoblastos (células progenitoras que produzem a matriz óssea) (DOROZHKIN, 2007).

Muitas das funções fisiológicas e mecânicas do osso dependem do tamanho do cristal de apatita e da sua relação espacial com as moléculas de colágeno na matriz extracelular. Esses cristais são depositados dentro das fibrilas de colágeno e essa relação estrutural vai depender da quantidade e distribuição dessa fase mineral, o que afeta a conformação das moléculas de colágeno. As propriedades do osso são decorrentes da combinação da alta dureza da fase inorgânica e da alta resistência à fratura da fase orgânica. Essa interação entre a fase inorgânica e a orgânica é determinante nas suas propriedades biomecânicas e biológicas o que dará suporte às funções atribuídas aos vários tipos de ossos. A superposição destes dois materiais distintos com propriedades totalmente diferentes resulta na formação de um compósito em escala nanométrica, no qual as propriedades físicas superam às dos componentes individuais (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2011).

### **3.4.1 Remodelação do Tecido Ósseo**

O osso é um compósito natural com uma estrutura altamente hierarquizada, e é um tecido dinâmico capaz de auto regeneração ou auto remodelação ao longo da vida. A remodelação óssea consiste na remoção de uma quantidade pré-determinada de tecido ósseo, pelos osteoclastos, seguida da formação do novo osso na cavidade formada pelos osteoblastos (SIKAVITSAS *et al.*, 2001).

Modelamento e remodelamento ósseo são eventos atuantes na etapa de reparação do osso. Esses eventos podem ser incitados por micro lesões, estímulos mecânicos, estímulos combinados ou por mecanismos desconhecidos. Denomina-se "modelamento" o processo de construção do osso havendo deposição óssea sem reabsorção prévia, o que provoca mudanças em sua forma e tamanho, e "remodelamento" o processo de reconstrução, no qual a reabsorção óssea é seguida por formação frente à sobrecarga mecânica. Assim, quando a reabsorção óssea ocorre no nível do perióstio ou endóstio, o processo é denominado modelamento, porém se a atividade dos osteoclastos resulta na

formação de cavidades de reabsorção no osso, sendo preenchido por osso novo pelos osteoblastos, o processo é chamado remodelamento ou remodelação (YOUNG; HEATH, 2001).

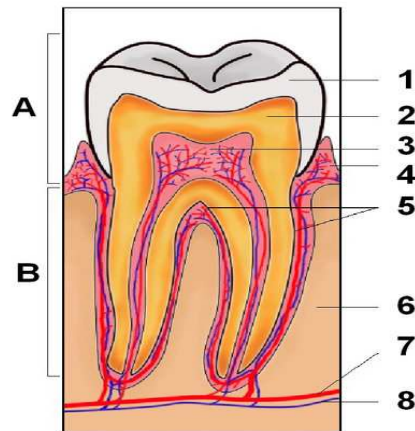
Este processo dinâmico de formação e destruição do osso permite seu crescimento durante a época de desenvolvimento do organismo, mantendo sua forma e consistência e sua regeneração quando se produz uma fratura. O osso pode remodelar-se e adaptar-se ao ambiente mecânico aplicado. Esta propriedade é denominada *lei de Wolf*, resultando numa nova estrutura mais apropriada e a aplicação de uma força maior resultará num osso mais denso. O metabolismo afeta o crescimento ósseo em todos os estágios de desenvolvimento. A disponibilidade de cálcio, fósforo e vitaminas A, C e D são essenciais à osteogênese e, portanto definem a forma e dimensão do esqueleto (JUNQUEIRA, 2011).

A ausência de vitamina D3 provoca uma mineralização defeituosa, o que é chamado de osteomalácia. Somente 5 a 20% da superfície óssea sofrem remodelamento num determinado momento, o restante permanece na fase quiescente, ou seja, em repouso. O processo de remodelamento demora de 3 a 4 meses, começa pela ativação dos osteoclastos e finaliza-se com formação do novo osso pelos osteoblastos. Segundo Davies (2003), os osteoblastos são as únicas células que sintetizam a matriz óssea. O crescimento ósseo ocorre apenas por aposição, ou seja, deposição de matriz em uma superfície óssea pré-existente ou na superfície de um material bioativo. Numa pessoa saudável de 9a 10 % de substância óssea são substituídas anualmente. Quando o processo de reabsorção óssea ocorre mais intensamente que o de formação, temos a osteoporose (SIMÕES *et al.*, 1995; DAVIES, 2003; KATTI, 2004).

### 3.5 ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO DO TECIDO DENTÁRIO

Histologicamente, o elemento dentário é formado por um tecido conjuntivo especializado conhecido como polpa, envolta por uma estrutura formada por tecidos mineralizados: esmalte, dentina e cimento, conforme a Figura 3. Os tecidos mineralizados, que formam parte do elemento dentário são sólidos permeáveis que possuem estrutura complexa, sendo formado por uma parte inorgânica intimamente associada a uma parte orgânica (KATCHBURIAN; ARANA, 2004).

Figura 3 - Partes do elemento dentário.



Fonte: Adaptada de DE DEUS, (1992)

A- coroa, B- raiz. 1- esmalte, 2- dentina, 3- polpa, 4- gengiva, 5- cimento, 6- tecido ósseo, 7- vasos sanguíneos, 8- nervo.

### 3.5.1 Esmalte Dentário

Os dentes têm a mesma natureza que os ossos exceto em sua camada superficial externa, o esmalte dentário. A coroa dos dentes de seres humanos é revestida pelo esmalte dentário, sendo este tecido originado do ectoderma. Compreende a estrutura acelular de natureza cristalina, mais calcificada, e mais dura, contendo 97% de sais de cálcio e apenas 3% de água e matéria orgânica (principalmente proteínas), possuindo cristais prismáticos, bem maiores e orientados, que sofrem dissolução por ácidos, os quais determinam as bases químicas das lesões de cárie. Durante a formação do esmalte, vários íons são incorporados aos cristais de hidroxiapatita, tais como: estrôncio, magnésio, carbonatos e fluoreto. O cristal de apatita carbonatada que é inferior e sofre fácil dissolução por ácidos, está localizado na região cervical e nas fissuras (locais de maior formação de cáries). Estruturalmente, o esmalte é composto por cristais de hidroxiapatita com diferentes orientações espaciais, o que é responsável pela estrutura histológica. Estes cristais, denominados prisma de esmalte estão

separados entre si por uma substância interprismática de composição semelhante, porém orientados de maneira diferente dos prismas. Entre os cristais de hidroxiapatita há uma fina rede de material orgânico com muitas proteínas e polissacarídeos (LOPES; SIQUEIRA JUNIOR, 2004; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

O elevado conteúdo mineral apresentado pelo esmalte dentário também é responsável por sua acentuada fragilidade, desta forma o esmalte apresenta-se como um tecido extremamente quebradiço incapaz de resistir eficazmente aos esforços da força mastigatória a menos que seja suportado por um tecido de maior elasticidade denominado dentina. Clinicamente pode-se denominar o esmalte como um tecido duro, não vital e não sensível que quando desgastado pelo uso ou por cárie não pode ser substituído ou recuperado naturalmente. Apesar de apresentar um processo biológico restrito, o esmalte é dotado da importante propriedade de permeabilidade, permitindo que trocas iônicas possam acontecer entre ele e o ambiente (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

### **3.5.2 Dentina**

A dentina é constituída por: matéria inorgânica (70%), matéria orgânica (20%), água (10%). Esta composição varia com a idade do dente, devido a sua mineralização progressiva, mesmo já estando totalmente formado. A porção inorgânica consiste de sais minerais sob a forma de cristais de hidroxiapatita. Cada cristal é composto por vários milhares de unidades e cada unidade básica fundamental tem como fórmula  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Contém também pequena quantidade de fosfatos, carbonatos e sulfatos, além de elementos como F, Cu, Zn, Fe e outros. Os grupos OH da hidroxiapatita podem se combinar com o flúor e formar a fluorapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ ). Esta troca particular na composição da apatita tem importância clínica, pois a fluorapatita é menos solúvel que a hidroxiapatita, apresentando maior resistência ao ataque ácido produzido por microorganismos causadores da cárie. A porção orgânica consta de fibras colágenas (17%), dispostas em pequenos feixes ao redor e entre os prolongamentos odontoblásticos. Estas fibras são unidas e cimentadas pela substância amorfa de natureza glicoproteica (lipídios, glicosaminoglicanas e compostos protéicos) (DE DEUS, 1992; LOPES; SIQUEIRA JUNIOR, 2004).

A dentina é considerada um tecido conjuntivo especializado, mineralizado, avascular sendo responsável pela formação de grande parte da estrutura dentária, suporta o esmalte compensando de certo modo sua fragilidade. A dentina é recoberta pelo esmalte na sua porção coronária e pelo cemento na porção radicular e circunda a câmara pulpar, apresentando-se como um tecido duro, elástico, de coloração branco-amarelada. Por ser um tecido vivo, contém prolongamentos de células especializadas e substância intercelular. A dentina é permeada por túbulos dentinários, esses túbulos mostram-se agrupados e atravessam a dentina em toda sua espessura contendo prolongamento citoplasmático de células denominadas de odontoblastos, o que torna a dentina bem diferente do esmalte (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A dentina é bem mais sensível que o esmalte, apresenta capacidade de reparação natural, uma vez que os odontoblastos são estimulados a promover a deposição de dentina sobre a área afetada. Após a formação da dentina primária e os dentes erupcionarem, estas células continuam a formar dentina, porém em uma escala mais lenta, a dentina secundária fisiológica, não apresentando muita diferença da dentina primária. Entretanto ela pode ser diferenciada da dentina reacional que é formada em resposta a estímulos localizados a exemplo de procedimento restaurador ou lesão cariada. Dentina e polpa formam um complexo em íntima relação topográfica, embriológica e funcional, por isso têm características biológicas comuns. Como mostra a Tabela 3, a cristalinidade entre osso e dentina é similar, ao passo que no esmalte é significativamente maior (VALLET-REGÍ; GONZÁLEZ-CALBET, 2004; ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006).



Tabela 3 - Composição comparativa e parâmetros estruturais das fases inorgânicas de tecidos humanos adultos calcificados.

<b>Composição (% p/p)</b>	<b>Esmalte</b>	<b>Dentina</b>	<b>Osso</b>
Cálcio (Ca)	36,5	35,1	34,8
Fósforo (P)	17,7	16,9	15,2
Ca/P(razão molar)	1,63	1,61	1,71
Magnésio (Mg)	0,44	1,23	0,72
Sódio (Na)	0,5	0,6	0,9
Potássio(K)	0,08	0,05	0,03
Carbono (C)	1,1	1,5	7,4
Fluoreto (F)	0,01	0,06	0,03
Carbonato(CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> )	3,5	5,6	7,4
Cloreto (Cl)	0,3	0,01	0,13
Pirofosfato (P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup> )	0,022	0,10	0,07
Potássio (K)	0,08	0,05	0,03
Tamanho Típico de Cristal (nm)	100umX50X50	35X25X4	50X25X4
Índice de Cristalinidade	70-75	33-37	33-37
Resistência a compressão (MPa)	10	100	150
Inorgânicos totais	97	70	65
Orgânicos totais	1,5	20	25
Água	1,5	10	10

Fonte: Dorozhkin (2007); Aoki (1991)

### 3.5.3 Polpa Dental

Estruturalmente a polpa dental mostra-se inicialmente como um tecido conjuntivo mucoso, tipo embrionário, evoluindo para um tecido conjuntivo frouxo, chegando por vezes, na senilidade, a apresentar predominância de fibras. É um tecido ricamente vascularizado e innervado, apresentando grande capacidade de reparação desde que esteja em condições favoráveis. As principais funções do tecido pulpar são função formativa (produção de dentina), nutritiva, defensiva e sensorial. A organização morfofuncional da polpa condiciona a capacidade de reação do dente às agressões que sofre, as quais primariamente atingem as camadas calcificadas que a cercam. As principais células deste tecido são: odontoblastos, fibroblastos, células ectomesenquimais e macrófagos (LOPES; SIQUEIRA JUNIOR, 2004; ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006).

### 3.5.3.1 Odontoblastos

São células especializadas do tecido pulpar, localizadas na periferia deste tecido e adjacente à pré-dentina (camada de dentina não mineralizada), são responsáveis pela formação de dentina e agem como mediadores de sua nutrição. A camada odontoblástica é formada por células dispostas em paliçada (fileira de núcleos alongados paralelos entre si), que se assemelha ao epitélio cilíndrico simples. Na região coronária as células são maiores e mais numerosas do que na região radicular (DE DEUS, 1992; LEONARDO; LEAL, 1998; LOPES; SIQUEIRA JUNIOR, 2004).

### 3.5.3.2 Fibroblastos

São as células mais comuns e mais numerosas do tecido conjuntivo pulpar, encontradas especialmente na região coronária, onde formam uma camada altamente celularizada. Estas células multifuncionais formam, mantêm e regulam a matriz extracelular fibrilar e amorfa. Existem grupos distintos de fibroblastos que se diferem fenotipicamente. Essas células formam diversos tipos de colágeno, de acordo com suas propriedades funcionais e químicas (LEONARDO; LEAL, 1998; LOPES; SIQUEIRA JUNIOR, 2004).

### 3.5.3.3 Células Ectomesenquimais Indiferenciadas

As células ectomesenquimais indiferenciadas constituem células de reserva da polpa, pela sua capacidade de diferenciar-se em novos odontoblastos ou fibroblastos de acordo com o estímulo atuante. O número dessas células diminui com a idade, geralmente, estão na região subodontoblástica e intimamente relacionadas com a micro vascularização pulpar. Essas células são muito semelhantes aos fibroblastos quando observadas em cortes histológicos para microscopia óptica, porém são menores e com aspecto estrelado. No dente completamente formado, existe uma população de células ectomesenquimais no ligamento periodontal que permite a diferenciação, quando necessário, de novas células de natureza conjuntiva (LOPES; SIQUEIRA JUNIOR, 2004).

#### 3.5.3.4 Macrófagos

Os macrófagos são células que participam do mecanismo de defesa e pertencem ao sistema fagocitário mononuclear e, como tal, originam-se dos monócitos. Os macrófagos modificam-se de acordo com o local que se encontram no tecido conjuntivo. As células livres possuem formas arredondadas e os macrófagos fixos são irregulares, pela presença de verdadeiros prolongamentos citoplasmáticos. São células de vida longa e podem sobreviver por meses nos tecidos (LEONARDO; LEAL, 1998; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

#### 3.5.4 Cimento Dental

O tecido cementário foi demonstrado macroscopicamente pela primeira vez em 1835. O cimento dental é um tecido de origem mesodérmica composta por 65% de material inorgânico, 23% de material orgânico e 12% de água. Pode ser considerado um tecido conjuntivo duro, com características físicas, químicas e estruturais muito semelhantes ao osso compacto, possuindo na sua composição, em média, 50% de hidroxiapatita. Os outros 50% são compostos em grande parte por colágeno e substância amorfa. Os constituintes da substância fundamental amorfa são basicamente proteoglicanas associadas a proteínas estruturais (LOPES; SIQUEIRA JUNIOR, 2004).

O cimento tem a sua embriologia claramente associada ao desenvolvimento do periodonto, a partir do folículo dentário. Apesar de assemelhar-se muito ao tecido ósseo na composição, o cimento não possui vascularização e, provavelmente por isso, não tem capacidade de remodelação. Suas células são nutridas simplesmente por difusão a partir do ligamento periodontal. Tanto quanto o esmalte, o cimento não é capaz de regenerar-se. Entretanto, diferentemente do esmalte, aumenta continuamente sua espessura por aposição contínua de novas camadas minerais. Embora não haja remodelação, o cimento continua a crescer por aposição, de maneira que se torna possível a visualização de linhas incrementais paralelas ao longo eixo do dente que representam períodos de descanso na sua formação. Essas linhas constituem zonas de maior mineralização que o tecido adjacente, com menor quantidade de tecido colágeno e maior presença de substância fundamental

amorfa. As células responsáveis pela formação do cimento são os cementoblastos, que são encontrados revestindo a superfície das raízes, interpostos entre feixes de fibras do ligamento periodontal (LOPES; SIQUEIRA JUNIOR, 2004; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

### **3.5.5 Região Periapical ou Periápice**

A região periapical ou periápice, para fins didáticos, pode ser definida como um complexo de tecidos, estruturas e elementos anatômicos que se colocam em torno do ápice radicular. Mesmo sem existir uma dimensão precisa podemos situá-lo como uma região de 6 a 8 mm abrangendo o ápice radicular e as estruturas imediatamente anexas. A região periapical possui funções variadas como de sustentação e de inserção, função nutritiva, nervosa e de defesa. Diferentemente do tecido pulpar, que possui limitada capacidade de reparo, pois se encontra circundada por paredes rígidas e suprimento sanguíneo restrito, os tecidos periapicais possuem um potencial ilimitado de reparo. A região periapical, em condições normais, é composta por ápice radicular, ligamento periodontal apical e osso alveolar apical (DE DEUS, 1992; LEONARDO; LEAL, 1998; LOPES; SIQUEIRA JUNIOR, 2004).

## **3.6 ALTERAÇÕES PULPARES**

As principais alterações patológicas que acometem a polpa e os tecidos perirradiculares são de natureza inflamatória e de etiologia infecciosa, sendo a cárie dentária responsável pela maioria dessas alterações (em nosso país) (LEONARDO; LEAL, 1998). A cárie dentária é uma doença multifatorial, transmissível, infecciosa e mutilante, que ocorre quando há a associação de fatores como placa bacteriana cariogênica, dieta inadequada e higiene bucal deficiente (MENAKER, 1984).

A doença cárie dentária é um processo dinâmico que ocorre nos depósitos microbianos (placa bacteriana localizada na superfície do dente) e que resulta em distúrbios de equilíbrio entre a substância do dente e o fluido da placa adjacente. O resultado, com o tempo, é a perda mineral nas superfícies do elemento dental,

podendo se manifestar de várias formas, desde opacidade no esmalte, até grandes cavidades capazes de se estender à polpa dental, comprometendo a integridade do dente e se estender para a região periapical, repercutindo na saúde geral do paciente (DE DEUS, 1992).

Quando os tecidos acometidos estão deficientes estruturalmente ou quimicamente, ou a resistência sistêmica está baixa, a destruição dos tecidos pela cárie dentária será rápida. Contrariamente, quando os tecidos não estão deficientes, essa destruição será lenta e possivelmente evitada (LOPES; SIQUEIRA JUNIOR, 2004; MAIA, 2006; ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006; FERREIRA et al., 2007a).

### 3.7 TRATAMENTO ENDODÔNTICO

O tratamento endodôntico se caracteriza normalmente pela remoção de todo tecido pulpar infectado que se encontra na parte mais interna do dente substituindo-o por um material obturador adequado, proporcionando a obliteração de todo o sistema de canais radiculares (PETERS; SCHONENBERGER; LAIB, 2001).

O tratamento endodôntico é constituído de várias etapas e, a despeito de se ter dado a mesma importância a todas elas, a obturação sempre mereceu destaque, chegando mesmo a ser colocada como fator determinante para o sucesso deste tratamento (FERREIRA, 2007).

A terapia endodôntica envolve o tratamento de dentes com polpas vitais e necrosadas sendo que o sucesso destes tratamentos depende de vários fatores interdependentes, fazendo-se necessário o cumprimento de todas as etapas operatórias como limpeza e modelagem e obturação tridimensional do sistema de canais radiculares. Quando se realiza o tratamento endodôntico, é devolvida ao dente sua função e o equilíbrio de todo sistema estomatognático, (DE DEUS, 1992; LEONARDO; LEAL, 1998; PETERS; SCHONENBERGER; LAIB, 2001; BROSCO, 2002).

### 3.7.1 Obturação do Sistema de Canais Radiculares

As causas mais frequentes que levam à necessidade da realização de um tratamento endodôntico são alterações do tecido pulpar de caráter irreversível decorrentes das lesões provocadas pela evolução da cárie dentária (STASHENKO; TELES; D'SOUZA, 1998; TORABINEJAD et al., 2005).

O tratamento endodôntico consiste na limpeza e modelagem, seguida da obturação hermética e preenchimento tridimensional do espaço antes ocupado pela polpa. A obturação é a etapa final que encerra a fase clínica do tratamento, e deve promover o isolamento completo e impermeável do canal radicular e estruturas circunvizinhas evitando sua infecção ou reinfecção, condição essencial para que se processe a cicatrização ou selamento biológico do canal radicular pela deposição de tecido mineralizado pelo organismo. Em canais tratados e não obturados são frequentemente observados severas alterações histológicas caracterizadas por reação inflamatória crônica periapical com reabsorção óssea e radicular (DE DEUS, 1992; ESPÍNDOLA et al., 2002; SOUZA, 2006).

A busca por materiais que promovam uma obturação hermética tridimensional tem impulsionado as pesquisas por novos materiais ou modificações de materiais já existentes na obtenção de propriedades que promovam o selamento completo impedindo a penetração de microrganismos ou de seus produtos pela via apical (TAY; PASHLEY, 2003). Vários materiais obturadores foram utilizados ao longo do tempo, muitos descartados por não serem práticos ou biocompatíveis. Os cones de guta-percha são materiais sólidos amplamente aceitos por apresentar estabilidade dimensional ser impermeável a fluidos orgânicos, ser menos tóxico e menos irritante aos tecidos periapicais. Entretanto como a guta-percha não adere à parede dentinária e seu uso está sempre associado a um material semi-sólido, como os cimentos endodônticos obturadores. Entretanto os cimentos sofrem dissolução, sendo provavelmente o fator responsável pelo aumento da micro infiltração bacteriana a médio e longo prazo (VALERA et al., 2000; DUARTE; DEMARCHI; MORAES, 2004).

As técnicas modernas de obturação preconizam uma maior quantidade da guta-percha e uma fina camada do cimento endodôntico já que estes representam a parte mais frágil da obturação. Entretanto o cimento é necessário para melhorar a adaptação da massa obturadora às irregularidades das paredes internas dos

canais radiculares e preencher os espaços existentes entre os cones de gutapercha controlando a percolação de líquidos para o interior do canal radicular, servindo também como lubrificante facilitando a colocação ou adaptação dos cones nas diferentes técnicas de obturação. O cimento ideal deve aderir firmemente aos cones de gutapercha e a parede interna do canal radicular. Em uma situação estática deve eliminar qualquer espaço que possa permitir a percolação de fluidos entre a massa obturadora e as paredes dentinárias, em uma situação dinâmica é preciso resistir ao deslocamento, assim a força de união entre o cimento endodôntico a gutapercha e a parede interna do canal radicular constitui-se numa propriedade importante na manutenção do selamento apical (FELLIPE; FELIPPE; ROCHA, 2006; KOKKAS et al., 2004; AGUIAR et al., 2007; MAIA et al., 2010; BARBIERI; PEREIRA; TRAIANO, 2010).

### 3.8 CEMENTOS ENDODÔNTICOS OBTURADORES

Os cimentos obturadores endodônticos atuam como coadjuvantes na obturação dos canais radiculares, sendo seu uso necessário a fim de preencher espaços vazios entre o material sólido (gutapercha) e as paredes internas do canal complementando o preenchimento tridimensional da cavidade pulpar, tornando a obturação mais homogênea. A principal razão do preenchimento completo é o fato de que mesmo após o preparo biomecânico, as paredes internas dos canais podem conter microrganismos capazes de provocar irritações aos tecidos periapicais (TAY; PASHLEY, 2003; DUARTE et al., 2003; SOUZA, 2006). A obtenção de um selamento ideal é extremamente difícil. Somadas a estas propriedades são exigidas também algumas características como ser bactericida, facilidade de manipulação, radiopacidade, não alterar a cor do elemento dentário, e sabendo que os cimentos entram em contato com os tecidos vivos devem ser também, biologicamente compatíveis não interferindo e se possível favorecendo o processo de reparação tecidual. Um material é considerado biocompatível quando possui a capacidade de não ser destrutivo ao ambiente. Quando determinado material entra em contato com os tecidos vivos e fluidos corporais, naturalmente vai haver uma interação entre o material e o ambiente biológico. É importante considerar, no entanto, que essa interação

acontece dos dois lados, ou seja, o material pode ser afetado pelo meio biológico bem como o meio biológico pode ser afetado pelo material (BERBERT; CONSOLARO, 2002; VAN NORT, 2004).

Existem no mercado vários tipos de cimentos obturadores endodônticos, sendo possível agrupá-los de acordo com sua base ou composição química como cimentos resinosos, cimentos a base de ionômero de vidro, cimentos a base de óxido de zinco e eugenol, e os cimentos que contêm em suas formulações o hidróxido de cálcio, sendo os dois últimos os mais populares e mais utilizados. Apesar da grande variedade nenhum deles preenche todos os requisitos exigidos um material obturador ideal (LEONARDO; LEAL, 1998; LOPES; SIQUEIRA JUNIOR, 2004).

### **3.8.1 Cimentos a Base de Óxido de Zinco e Eugenol (ZOE)**

Os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol são utilizados na odontologia nas últimas seis décadas. Suas formulações foram sendo modificadas e adaptadas de acordo com as necessidades ao longo do tempo. Estes cimentos apresentam um sistema pó e líquido, sendo o pó constituído essencialmente de óxido de zinco puro, sendo às vezes adicionados alguns sais, como acetato de zinco, fósforo e outros, os quais podem acelerar a reação de endurecimento. Ao líquido, que é o eugenol purificado, também é acrescentado substâncias como o ácido acético, álcool ou água que podem acelerar o endurecimento do cimento (MARTOS, 2006).

O eugenol liberado do cimento provoca reações adversas em animais experimentais e em seres humanos, apresenta baixa resistência à compressão e alta solubilidade e uma maior adesão aos cones de guta-percha em relação à dentina. Isso pode ser atribuído à reação de fixação de misturas de óxido de zinco contido nos cones e nos cimentos que é uma reação de quelação ocorrendo com o íon zinco do óxido de zinco (JOHNSON, 1999; CAMPS; ABOUT, 2003; BAISCH; SILVEIRA; MARTOS, 2006). Esta reação também pode ocorrer com o óxido de zinco, presente na composição da guta-percha, que varia entre 50% a 70%, sendo inferior com o cálcio da fase mineral da dentina presente na parede interna dos canais radiculares. Já o excesso de eugenol do cimento pode



amolecer os cones de guta-percha, melhorando a união entre ambos. A presença do eugenol nestes cimentos explica a atividade antimicrobiana, já que ele é capaz de induzir a morte celular e inibir o crescimento bacteriano (GOMES et al., 2002; SACRAMENTO et al., 2008).

Nas obturações endodônticas uma pequena quantidade deste cimento pode extravasar e entrar em contato com os tecidos periapicais ao nível do forame apical e ser suficientemente tóxico tanto para as bactérias quanto para os tecidos vivos. Se extravasar uma quantidade maior, permite uma difusão do eugenol, exercendo suas propriedades deletérias. A agressão sofrida pelos tecidos quando do contato com este cimento pode comprometer o processo de reparação, o qual se iniciará mais rapidamente quando a irritação sofrida for de baixa intensidade (BERBERT; CONSOLARO, 2002; NASSRI; LIA; BOMBANA, 2003).

### **3.8.2 Cimentos a Base de Hidróxido de Cálcio**

Um material considerado ideal para a obturação dos canais radiculares deve apresentar boas propriedades físico-químicas e biológicas. Sendo que dentre as propriedades biológicas a biocompatibilidade e o potencial capaz de induzir a formação de tecido mineralizado são as mais desejadas (ESTRELA; HOLLAND, 2003).

Na busca por estas características o hidróxido de cálcio tem sido acrescentado às formulações dos pós de alguns cimentos obturadores endodônticos, na tentativa de aliar propriedades biológicas do hidróxido de cálcio com as características físico-químicas já atribuídas a um bom cimento obturador.

#### **3.8.2.1 Características Químicas do Hidróxido de Cálcio**

O hidróxido de cálcio foi introduzido na odontologia por Herman em 1920, e logo depois foi divulgado seu uso em tratamentos endodônticos. Apresenta-se como um pó branco, fino e inodoro, pouco solúvel em água (solubilidade de 1,2 g/litro de água, à temperatura de 25°C), tratando-se então de uma base forte obtida a partir da calcinação do carbonato de cálcio, até transformar-se em óxido

de cálcio. Com a hidratação do óxido, chega-se ao hidróxido de cálcio, a reação entre este e o gás carbônico leva à formação do carbonato de cálcio (ESBERARD; CARNES; RIO, 1996; LEE et al., 2002; LOHBAUER et al., 2005).

### 3.8.2.2 Mecanismo de Ação do Hidróxido de cálcio

Os cimentos a base de hidróxido de cálcio são conhecidos pela possibilidade de melhora no selamento apical biológico. O hidróxido de cálcio possui a capacidade de auxiliar no reparo e estimular a deposição de tecido mineralizado, além de preservar esses tecidos devido a uma discreta reação inflamatória quando do seu contato (ESTRELA; HOLLAND, 2003).

O mecanismo exato da ação do hidróxido de cálcio é muito discutido na literatura por não ser muito claro. Os íons de cálcio provenientes do hidróxido de cálcio possivelmente penetram no tecido aproximadamente no limite entre área necrosada e a porção tecidual que permanece com vitalidade, reage com o gás carbônico dos tecidos produzindo um precipitado de granulação de sais de cálcio constituídos principalmente por carbonato de cálcio sob a forma de calcita, (NASSRI; LIA; BOMBANA, 2003; SACRAMENTO et al., 2008; DESAI; CHANDLER, 2009). Este precipitado parece estimular o organismo a depositar sais de cálcio em pequenas partículas, formando a camada intermediária. A camada de dentina propriamente dita resulta da calcificação da matriz de colágeno secretada pelos odontoblastos, que são originados das células mesenquimais (íons de cálcio da circulação sanguínea). O cálcio do hidróxido de cálcio participa apenas das granulações superficiais de maior porte, enquanto todo cálcio restante tem origem do próprio organismo. Várias pesquisas evidenciam a participação ativa dos íons cálcio do hidróxido de cálcio na barreira dentinária e osteocementária (selamento biológico apical) nos túbulos dentinários e em outras áreas envolvidas em mineralizações. (ESTRELA et al., 1995; SIQUEIRA JUNIOR; LOPES, 1999; LEONARDO, 2005; LEONARDO et al., 2007).

O hidróxido de cálcio apresenta importantes propriedades enzimáticas: o seu pH altamente alcalino que varia entre 12,4 a 12,8, parece neutralizar o ácido láctico dos osteoclastos prevenindo a dissolução do componente mineral do dente, Inibe as enzimas bacterianas a partir da ação em nível de membrana citoplasmática, conduzindo ao efeito antimicrobiano, desnatura as proteínas

encontradas no canal radicular diminuindo sua toxicidade, e a sua capacidade de ativar as enzimas teciduais, como a fosfatase alcalina, gerando o efeito mineralizador (ESTRELA et al., 1995; LEONARDO, 2005; LEONARDO et al., 2007).

Alguns autores assinalam o pH como fator determinante do potencial dentino-osteogênico do hidróxido de cálcio, enquanto que outros acreditam que o próprio cálcio seria o responsável. A fosfatase alcalina pode separar os ésteres fosfóricos de modo a liberar os íons fosfato, que ficam livres e reagem com os íons cálcio da corrente sanguínea, para formar um precipitado na matriz orgânica, o fosfato de cálcio é a unidade molecular da hidroxiapatita. Entretanto, para que o hidróxido de cálcio possa induzir a formação de tecido mineralizado é necessário que o mesmo apresente um meio alcalino e promova a dissociação iônica do hidróxido de cálcio em íons cálcio e íons hidroxila ao meio adjacente podendo resultar em bom comportamento tecidual (LOHBAUER et al., 2005).

O meio alcalino promoverá a ativação da fosfatase alcalina que ajudará na deposição de tecido mineralizado através da reação do cálcio com o dióxido de carbono dos tecidos, resultando em carbonato de cálcio, apresentando características químicas de um óxido ácido fraco que vai interferir na respiração celular de bactérias anaeróbicas. O carbonato de cálcio por sua vez servirá de matriz para o processo de calcificação promovendo a formação de tecido duro e conseqüentemente o reparo apical (SEUX et al., 1991; ESTRELA et al., 1995; MARCUCCI; AVOLIO; DEBONI, 2000; HOLLAND et al., 2002). Porém, os cimentos à base de hidróxido de cálcio podem favorecer a mineralização, mas apresentam uma maior solubilidade com o decorrer do tempo, podendo comprometer o selamento hermético do canal radicular. A presença de hidróxido de cálcio na composição do cimento endodôntico necessariamente não assegura que ele irá se tornar livre como íons cálcio e hidroxila. Após a presa do material, pode não ocorrer à liberação dos íons, ou mesmo o hidróxido de cálcio pode ser inativado por outros componentes do cimento endodôntico (TAGGER; TAGGER, 1988; SONAT; DALAT; GUNHAN, 1990; SOLAK; OZTAN, 2003).

### 3.9 GUTA-PERCHA COMO MATERIAL OBTURADOR ENDODÔNTICO

#### 3.9.1 Histórico

Segundo Schilder, Goodman e Aldrich (1974) a história primitiva da guta-percha é obscura. Os maias e chineses já a utilizavam em épocas remotas em diversas aplicações (DE DEUS, 1992).

Na década de 1840, a guta-percha passou a ser aplicada nas artes, ciências e indústria, e pela sua diversidade e uso encantava a todos de tal forma que passou a ser usada indiscriminadamente. Porém, a primeira pessoa a utilizar o potencial deste material nas ciências médicas foi o Dr. William Montogmerie Queoa, empregando-o na fabricação de suportes de juntas fraturadas, catéteres, controle de hemorragias e até em doenças da pele (FRIEDMAN et al., 1975; BROSCO, 2002).

Na Odontologia a guta-percha é conhecida há aproximadamente cento e cinquenta anos e foi introduzida na Endodontia em 1867, por Bowman, participando da composição do material utilizado para obturação dos canais radiculares na proporção de aproximadamente 20% (FRIEDMAN et al., 1975; COLETO, 2006).

#### 3.9.2 Características da Guta-percha

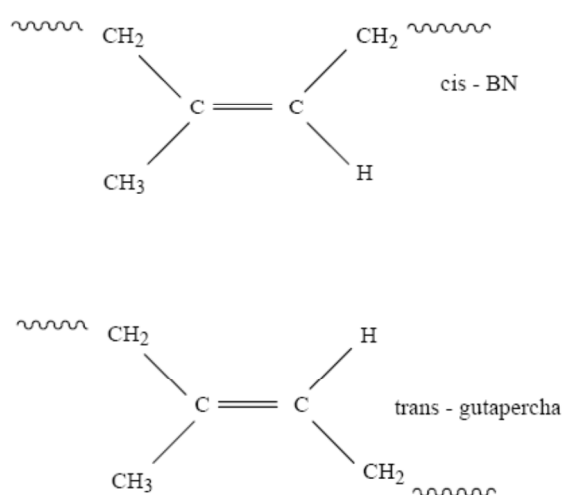
A verdadeira guta-percha é uma substância vegetal que pode ser obtida pela coagulação do látex de árvores da família das sapotáceas do gênero *Palaquium*, existente principalmente na região do Borneo, Nova Guiné e Malásia (SCHILDER; GOODMAN; ALDRICH, 1974; LEONARDO; LEAL, 1998; GURGEL FILHO, 2002).

A guta-percha é bem tolerada pelos tecidos vivos, insolúvel em água, soluções salinas ou alcalinas e nos fluídos orgânicos, pouco solúveis em eucaliptol, solúvel em éter clorofórmio e xilol (GOMES et al., 2002). Sofre degradação lenta quando exposta a luz, calor e umidade, apresentando grande resistência à biodegradação. Em geral, os cones de guta-percha possuem de 18 a 22% de guta-percha e de 37 a 75% de óxido de zinco, outra proporção

encontrada na literatura é de 14,5% a 20,4% e 66,5% a 84,3%, respectivamente, para guta-percha e óxido de zinco associado a pequenas quantidades de agentes de pigmentação e antioxidantes (GURGEL FILHO, 2002; WARNEKE et al., 2007; CASTANHA, 2008).

É derivada do monômero isopreno, polimerizado na posição 1,4 e cuja molécula é formada por uma cadeia de átomos unidos por ligações covalentes (FRIEDMAN et al., 1975). As ligações químicas ocorrem em unidades pequenas e simples, formando cadeias maiores com alto peso molecular, denominadas polímeros. Os polímeros podem sofrer mudanças na disposição espacial ou nas ligações dos seus átomos, sendo esse processo chamado de isomerismo (DE DEUS, 1992; BROSCO, 2002). A forma “cis” (borracha natural) é retorcida ou enrodilhada, com alinhamento complexo permitindo a mobilidade de uma cadeia em relação à outra, o que dá a borracha uma característica elástica e essencialmente amorfa. Enquanto a forma “trans” (guta-percha) é mais estável, linear e cristaliza-se mais facilmente, pois as cadeias estão fortemente presas uma as outras por ligações secundárias mantendo-se constante o ângulo entre as ligações, o que torna a guta-percha mais dura, mais frágil, brilhante e menos elástica que a borracha natural (RABELLO, 1989; GURGEL FILHO, 2002; MAIA, 2006). A figura 4 apresenta as configurações cis e trans do isopreno.

Figura 4 - Configurações da unidade monomérica do isopreno - (cise trans).

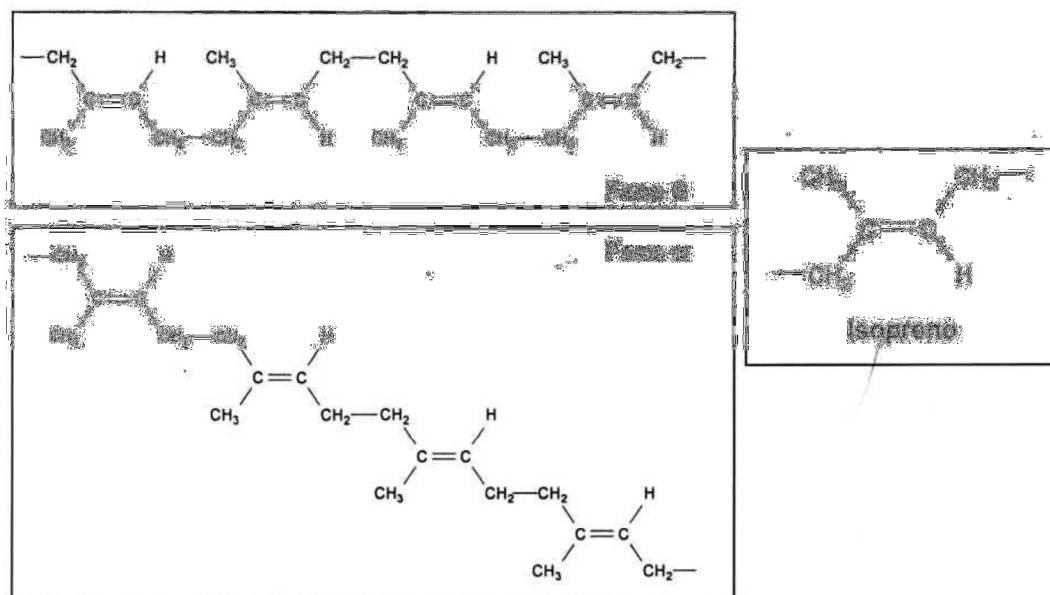


Fonte: LOPES e SIQUEIRA JR, 2004

Como pode ser observado na Figura 5, isômero “trans” (guta-percha) pode existir de duas formas cristalinas (alfa e beta), possuindo a mesma composição química, diferindo apenas na configuração em relação à localização do grupo metila ( $\text{CH}_3$ ) e, conseqüentemente, na distância intermolecular. A forma mais estável é a alfa, encontrada na natureza. A forma beta se estabiliza após adição de componentes inorgânicos. Além destas existe a forma amorfa onde não há ordenação nas cadeias poliméricas. A mudança de fase ocorre com alterações na temperatura, que geram modificação estrutural na cadeia de carbonos podendo ser reversível ou não (SCHILDER; GOODMAN; ALDRICH, 1974; ARJUNAN; SUBRAMANIAN; MOHAN, 2001).

A gutapercha na forma pura (alfa) à temperatura ambiente é dura tornando-se quando aquecida pegajosa, aderente e com maior escoamento não podendo ser compactada nem alongada. Sua temperatura de amolecimento é em torno de  $65^\circ\text{C}$ . Acima deste valor torna-se amorfa e derretida. Se este material amorfo for resfriado lentamente, abaixo de  $5^\circ\text{C}$  por hora, recristaliza novamente na forma alfa, porém se sofrer resfriamento rápido, como acontece rotineiramente, recristaliza na forma beta que é rígida e sem nenhuma propriedade adesiva. Se a forma beta for novamente aquecida, torna-se amorfa a  $56^\circ\text{C}$ ,  $9^\circ$  abaixo do ponto de amolecimento da forma alfa (BROSCO, 2002; BHOWMICK; STEPHENS, 2001; SILVA JUNIOR et al., 2006).

Figura 5 - Guta-percha nas fases alfa e beta e unidade estrutural do monômero isopreno.



Fonte: Adaptada:Lopes e Siqueira Junior (2004).

Seu peso molecular e o tamanho da cadeia determinam suas propriedades físicas. Durante o processo de fabricação, através de procedimentos de moagem ou tratamento térmico, as longas cadeias da gutta-percha são quebradas em cadeias menores, conferindo ao material característica de flexibilidade. Após este processo tem-se gutta-percha na fase beta. Atualmente, muitos produtos disponíveis no mercado, apresentam a gutta-percha com peso molecular reduzido, conferindo a mesma característica de fluidez, menor temperatura de plastificação e melhor adesividade. A maior adesividade, porém, é proporcionada pela presença de radicais livres provenientes da quebra das cadeias fazendo com que os mesmos procurem se unir a alguma coisa. Então, pode-se concluir que o mais importante é o peso molecular e não se a gutta-percha é alfa ou beta. A gutta-percha beta quando aquecida, apresenta dois picos de temperatura, sendo o primeiro entre 42°C a 49°C e o segundo entre 53°C a 59°C, enquanto que a gutta-percha na fase alfa apresenta apenas um pico (WEATHERS JUNIOR, 1991; COMBE; COHEN; CUMMINGS, 2001).

A gutta-percha na forma pura (alfa) e à temperatura ambiente, é dura tornando-se pegajosa quando aquecida, aderente e com maior escoamento não podendo ser compactada nem alongada. Sua temperatura de amolecimento é em torno de 65°C. Acima deste valor torna-se amorfa e derretida (BHOWMICK;

STEPHENS, 2001; SILVA JUNIOR et al., 2006). Se este material amorfo for resfriado lentamente, abaixo de 5°C por hora, recristaliza na forma alfa, porém se sofrer resfriamento rápido, como acontece rotineiramente, recristaliza na forma beta que é rígida e sem nenhuma propriedade adesiva. Se a forma beta for novamente aquecida, torna-se amorfa a 56°C (BROSCO, 2002; SILVA JUNIOR et al., 2006).

As mudanças de fase da guta-percha também podem provocar alterações em seu comportamento volumétrico. Quando aquecida da forma beta para alfa ou amorfa se expande como resultado da excitação de suas moléculas. Após resfriamento rápido retorna a fase beta sofrendo contração maior que a expansão sofrida anteriormente. Para compensar a diferença entre a expansão e contração é necessária a realização de uma condensação prevenindo a formação de fendas entre o material. Quanto maior for à temperatura de aquecimento, maior será a contração após resfriamento. As temperaturas de transição de fase dependem entre outros fatores da proporção entre os componentes orgânicos e inorgânicos, da pureza da substância, peso e distribuição molecular, processo de industrialização, (MARCIANO; MICHAILESCO; ABADIE, 1993; BROSCO, 2002).

As condições de armazenamento ou estocagem dos cones de guta-percha podem alterar suas propriedades físicas e químicas já que os mesmo com o tempo vão se tornando ressecados e quebradiços, indicando que pode ocorrer degradação parcial dos componentes, devendo, portanto ser armazenado em local frio e seco (FERREIRA, et al., 2007a; WARNEKE et al., 2007).

### 3.10 MODIFICAÇÕES DE SUPERFÍCIE

De acordo com Orefice, Pereira e Mansur (2006), a superfície de um material exerce um papel predominante na relação entre o tecido e a interface material-tecido. A modificação de superfície de materiais para aplicações como biomaterial possibilita a combinação de propriedades do volume com as propriedades adequadas da superfície como biocompatibilidade e bioatividade. De modo geral as superfícies dos materiais estarão sujeitas às alterações do ambiente que o mesmo está inserido. Assim a superfície de um material é normalmente considerada como parte importante de qualquer produto visto que a



maioria das reações ocorre nas superfícies e interfaces (ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006; FOOK et al., 2007).

Conhecer as propriedades físico-químicas das superfícies como microestrutura, adesividade, molhabilidade, biocompatibilidade, energia de superfície, composição e densidade de grupos químicos ou moléculas, é importante para que se possa desenvolver ou aprimorar produtos que explorem ao máximo o potencial do material. Entretanto para diversas aplicações existem a necessidade de melhorias e assim um grande esforço tem sido aplicado na área de engenharia de superfície a fim se obter recobrimento específico a aplicações onde se deseja outras características além das próprias do material (SCHEIDLER et al., 2007).

Várias pesquisas tem sido desenvolvidas com o objetivo de alterar as propriedades físico-químicas das superfícies de biomateriais utilizados no corpo humano no intuito de aumentar a bioatividade da superfície e acelerar tanto as reações com o meio biológico como o processo de osseointegração, formando-se uma interface mais resistente através da obtenção de uma maior área de contato do osso com o material implantado, resultando em uma possível ligação química com o tecido ósseo (SUL; BYON; JEONG, 2004; PINTO, 2006).

Qualquer tratamento de superfície cujo processo envolva transferência de energia pode alterar a energia livre de superfície do material, modificando assim as características de molhabilidade desta superfície e conseqüentemente sua funcionalidade biológica. Além disso, superfícies com micro topografias diferenciadas proporcionam uma maior área de adesão de fibrinas, potencializam a ativação plaquetária afetando favoravelmente a angiogênese local e as funções celulares como migração, alinhamento, orientação, fixação e diferenciação (CHO; PARK, 2003; DAVIES, 2003).

Já a modificação química da superfície pode ocasionar alterações no tipo de biomolécula presente, na cinética de atração, na energia da superfície e nas fases dos processos celulares dos osteoblastos, como adesão e sinalização. Algumas características topográficas assim como a composição química de biomateriais têm sido associadas ao comportamento dessas células osteoprogenitoras (RATNER et al., 1996). Deste modo pode-se modular ou determinar uma resposta biológica mais favorável modificando as características superficiais destes materiais. Vários processos de modificação das superfícies

têm sido desenvolvidos, ou por modificação da topografia ou por alteração na composição química ou até mesmo por ambos com a finalidade de aumentar o desempenho clínico de biomateriais (LINDHE; KARRING; LANG, 2003).

Materiais poliméricos têm sido largamente utilizados como biomateriais, porém a maioria apresenta superfície quimicamente inerte, e com baixa energia livre superficial, o que os torna não receptíveis à adesão de outras substâncias. Por este motivo artefatos fabricados com material polimérico necessitam de tratamentos com técnicas especiais com a intenção de alterar suas propriedades superficiais favorecendo sua interação e adesão com outras substâncias. A modificação superficial oferece inúmeras vantagens na adequação de materiais para determinado uso, pois apenas a superfície é alterada, deixando sua matriz intacta e assim mantendo suas propriedades originais. A composição da superfície é inevitavelmente diferente do corpo devido às interações que normalmente ocorrem com a região externa (SELLIN, 2002; RATNER et al., 2004; ORÉFICE; PEREIRA; MANSUR, 2006).

Existem vários métodos para tratar superfícies poliméricas que vão desde tratamento convencional, com abrasões físicas ou químicas a tratamentos como plasma e técnicas de irradiação por feixe de partícula. A modificação de superfícies com revestimento bioativo tem sido reconhecida como uma alternativa para aproximar aspectos como biocompatibilidade, biofuncionalidade e bioatividade entre o biomaterial e o meio biológico (KOKUBO et al., 2004).

### **3.10.1 Tratamento químico**

A maioria dos polímeros apresenta superfícies quimicamente inertes e com baixa energia livre superficial o que os torna não receptivos à aderência de outras substâncias, por esse motivo estes materiais são tratados com técnicas específicas com o intuito de alterar suas propriedades de superfície, favorecendo a interação e a adesão com outras substâncias (SELLIN, 2002).

O tratamento químico trata-se de uma técnica onde se utiliza compostos químicos capazes de promover a formação de novos grupos químicos específicos na superfície da cadeia polimérica. Vários reagentes químicos ou soluções podem

ser usados e as escolhas do reagente e das condições experimentais dependem da natureza do polímero a ser tratado. O objetivo do tratamento químico neste estudo é de aumentar a área específica e a energia superficial dos cones gutapercha favorecendo o crescimento dos cristais de apatita a partir da formação de novos grupos funcionais que possam fornecer sítios efetivos para a nucleação da apatita na superfície (KOKUBO, 1998).

Estes tratamentos induzem a formação de cargas negativas, essas cargas favorecem a nucleação da apatita durante a imersão no SBF (Simulated Body Fluid). Uma vez formado a apatita, sua justaposição com o osso aumenta a osseointegração que é definida como sendo o contato estabelecido entre o osso e a superfície do substrato, sem a interferência do tecido conectivo entre eles (VERCIK, 2003).

### **3.10.2 Método Biomimético**

Inicialmente proposto por Abe e colaboradores em 1990, o método Biomimético de deposição, utiliza uma solução aquosa denominada Simulated Body Fluid (SBF), de pH, composição e concentração iônica similares ao fluido corpóreo. Este método é uma das técnicas mais promissoras para produção de biomateriais sob condições ambiente, consiste em um procedimento que permite recobrir praticamente qualquer substrato com uma camada uniforme de apatitas similar a biológica com até 15µm de espessura, sendo denominado de Método Biomimético de Recobrimento. O procedimento foi originalmente empregado sobre Ti c.p., ligas de Ti-6Al-4V, aço inoxidável F138, Pt e Cu, além da Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, ZrO<sub>2</sub>, vidro de sílica, poli(metacrilato de metila) e polietileno. Posteriormente foram aplicados com êxito a poli (etilenotereftalato), poli (etersulfona), poli (tetrafluoretileno) e poli (alcoolvinílico), sendo que a única limitação aparente é a natureza do substrato, que deve ser estável no meio utilizado e não liberar substâncias inibidoras que atrapalhem a nucleação da apatita. Nele simulam-se condições de precipitação de hidroxiapatita no corpo humano visando o recobrimento do substrato de natureza variada com uma camada de hidroxiapatita semelhante à biológica. Uma vez unidas à estrutura do material, as biomoléculas vão se ligando gradualmente, podendo formar uma matriz com potencial osteoindutor e osteocondutor, o que promove uma ligação de natureza química

com o substrato e não apenas uma adesão física (BARRÉRE et al., 1999; CARVALHO et al., 2009).

Este método se baseia na preparação da superfície do corpo a recobrir, de tal forma que a mesma contenha íons que atuem como agentes nucleantes de hidroxiapatita, como íons alcalinos e íons OH<sup>-</sup>, sendo realizado pela imersão do substrato a ser recoberto em uma solução sintética SBF de composição química e pH semelhante ao plasma sanguíneo e temperatura similar a do corpo humano. Em condições especiais, minúsculos cristais começam a se formar na superfície pré-tratada do corpo. Finalmente, a topografia da superfície definirá a sua capacidade de retenção pelo novo tecido formado, pela área de superfície específica, e manutenção desta retenção quando sob carga mecânica. Pelo fato de ser desenvolvido em condições fisiológicas e temperatura em torno de 37°C, possibilita seu uso também em materiais poliméricos que são sensíveis à temperatura (ALMEIDA FILHO et al., 1990).

Após a descoberta de Abe muitos estudos foram realizados utilizando o processo biomimético na busca de um recobrimento com característica mais próximo possível da HA biológica. Wen et al. (1997) estudaram duas novas etapas de pré-tratamento químico para incorporação de Ca-P. Para isso, adicionaram os substratos em uma mistura de HCl e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> seguido de um tratamento em solução de NaOH diluída a temperatura de 140 °C sob agitação e imersão em uma solução de calcificação supersaturada (SCS).

Estes autores utilizaram o titânio como substrato e demonstraram que o tratamento feito com as duas soluções deixou a superfície do titânio suficientemente bioativa para induzir o recobrimento de apatita, mas insuficiente para produzir um recobrimento com camada uniforme após duas semanas de imersão em SCS. Fook (2005) desenvolveu em seu trabalho de tese, uma técnica de modificação da superfície do polietileno de ultra-alto peso molecular (PEUAPM), utilizando o peróxido de hidrogênio como agente oxidante polarizando a superfície e aumentando a tensão superficial, estabelecendo assim condições para a deposição de apatita pelo método biomimético, com adequada adesão. O autor descreve que o método promove a formação de grupos polares na superfície do material, os quais atuam como sítios ativos e induzem a nucleação de apatitas sobre o material. Este tratamento mostrou-se muito efetivo para nucleação e crescimento da HA utilizando o método Biomimético. Aparecida

(2008) desenvolveu soluções biomiméticas com composições variadas utilizando como substrato o PEUAPM com a finalidade de obter um recobrimento de apatitas de interesse biológico.

O método biomimético de recobrimento de superfície tem se destacado por apresentar vantagens em relação aos de mais métodos de tratamento de superfície, tais como: baixo custo; deposição em substratos com qualquer geometria; processamento em baixas temperaturas (condições fisiológicas, isto é, a 37°C) com possibilidade de utilização no revestimento de materiais sensíveis à temperatura, tais como os polímeros. Além disso, com esse método pode-se recobrir substrato com diferentes fases de fosfato de cálcio, os quais possuem características favoráveis para formação do tecido ósseo. É importante ressaltar também que a união química do revestimento ao substrato garante uma camada uniforme e retentiva, com possibilidade de incorporar moléculas orgânicas (proteínas) aos cristais formados (REZENDE, 2011).

## 4 MATERIAIS E MÉTODO

### 4.1 LOCAL DA PESQUISA

À obtenção e caracterização físico-química das amostras dos cones de guta-percha, foi desenvolvida no Laboratório de Desenvolvimento de Avaliação e Design de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO), localizado no bloco CJ3, na Universidade Federal de Campina Grande – UFCG.

### 4.2 MATERIAIS

Para a obtenção das amostras foram selecionadas duas marcas comerciais de cones de guta percha Dentsply, (cone principal) e Tanari, (cone principal) dentro do prazo de validade, disponíveis no mercado brasileiro como pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4 - Tabela da nomenclatura abreviada das amostras dos cones de guta-percha comerciais utilizados neste estudo.

<b>Cones comerciais (tipos)</b>	<b>Nomenclatura</b>	<b>Fabricante</b>
Dentsply	DE	Dentsply Ind. e comercio
Tanari	TE	Tanariman ind. Ltda

#### 4.2.1 Tratamento Químico

Para o tratamento químico foi utilizado como reagente o peróxido de hidrogênio 30% m/m.

#### 4.2.2 Método Biomimético

Para a solução simuladora do fluido corpóreo (SBF), foram utilizados os seguintes reagentes: NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, KCl, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, HCl(1,0M), CaCl.H<sub>2</sub>O, NaSO<sub>4</sub>, NH<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>OH)<sub>3</sub>.

#### 4.2.3 Ensaio de Degradação enzimática

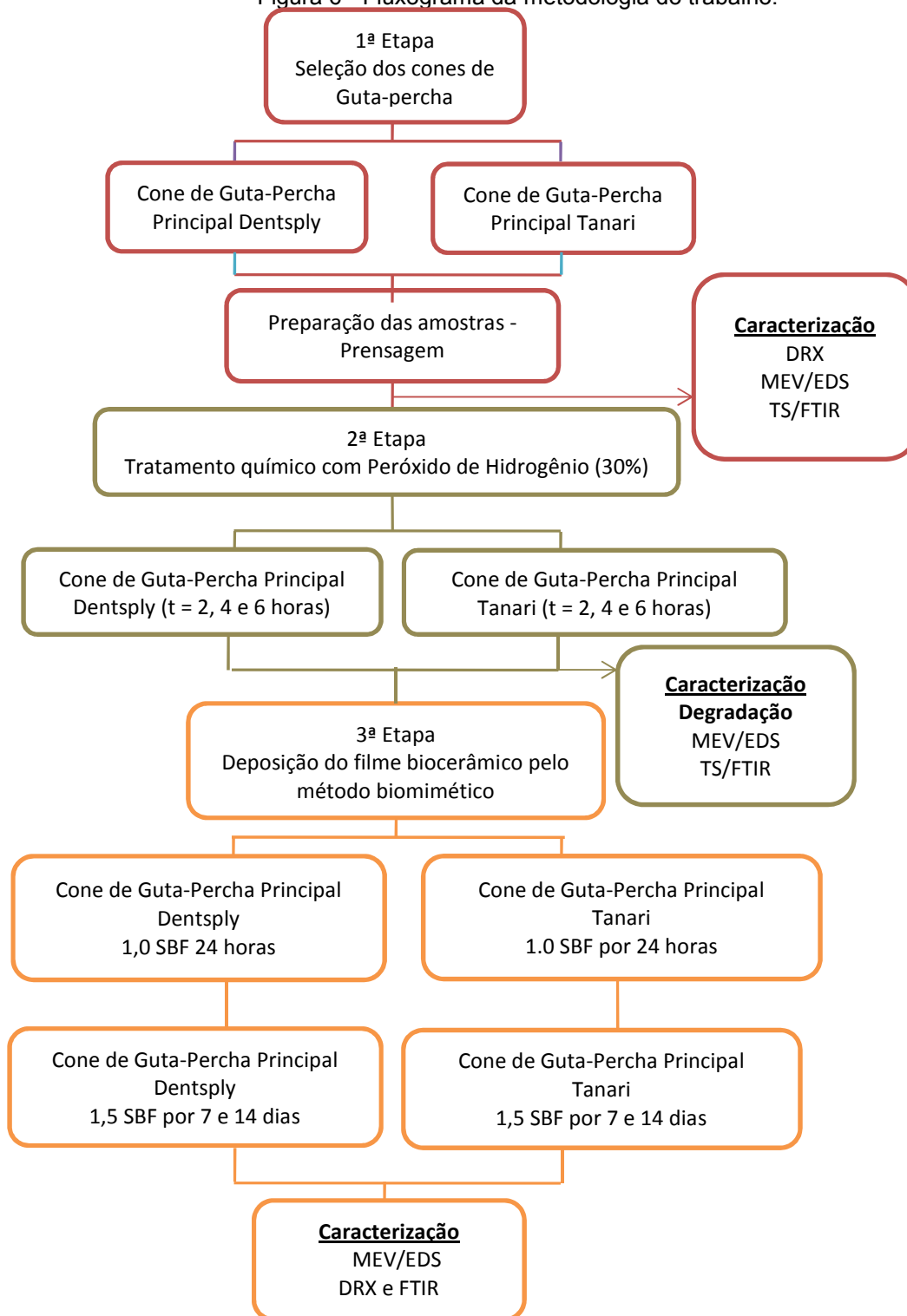
Para caracterização da biodegradação enzimática *in vitro* das amostras dos cones de guta-percha foram utilizados: **Lisozima**; Tampão **Phosphate Buffered Saline** (PBS) pH 7,4 (Sigma Aldrich).

### 4.3 MÉTODO

Inicialmente buscou-se obter um recobrimento de apatita na superfície dos cones endodôntico de guta-percha pelo método biomimético, sem tratamento químico, não obtendo resultados insatisfatórios, a metodologia aplicada iniciou-se a partir de um tratamento químico superficial dos cones de guta-percha em uma solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 30% em massa.

O fluxograma contido na Figura 6 apresenta a metodologia e descreve as etapas de desenvolvimento da pesquisa.

Figura 6 - Fluxograma da metodologia do trabalho.



### **4.3.1 Preparação das amostras**

As amostras para análise foram preparadas mediante moldagem por compressão e temperatura de 50<sup>0</sup>C, sendo obtidas na forma de filmes com espessura de aproximadamente 1,5mm. A fim de remover todas as impurezas presentes nas amostras, as mesmas foram lavadas com água destilada, e em seguida secas ao ar e armazenadas individualmente.

### **4.3.2 Tratamento Químico**

A modificação da superfície das amostras dos cones de guta-percha utilizando a solução de peróxido de hidrogênio a 30% foi necessária devido à guta-percha ser considerado um material bioinerte e conseqüentemente de baixa reatividade o que torna sua superfície pouco reativa à deposição do filme biocerâmico

Para ativação da superfície dos cones de guta-percha DE e TE, as amostras inicialmente foram lavadas com água destilada e secas ao ar, em seguida foram submetidas a um tratamento químico com uma solução de peróxido de hidrogênio 30% em massa a temperatura ambiente. Para tanto as amostras foram imersas individualmente em 10 ml da solução por períodos de 2, 4 e 6 horas, em seguida as amostras foram novamente lavadas com água destilada e secas em estufa a 37°C. Após o tratamento químico as amostras foram analisadas por Microscopia eletrônica de varredura (MEV), Espectroscopia dispersiva de raios X (EDS), Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), análise de biodegradação enzimática e medidas de ângulo de contato (molhabilidade).

### **4.3.3 Processo Biomimético**

#### **4.3.3.1 Cuidados adotados durante a preparação da solução SBF**



Sabendo que o SBF é uma solução supersaturada em relação aos íons de cálcio e fósforo, um método de preparação inadequado pode levar à precipitação dos reagentes durante o ensaio.

É importante verificar sempre que durante o preparo da solução, esta permaneça transparente e que não haja nenhum precipitado na superfície do recipiente. Se isto ocorrer, a preparação deverá ser interrompida, a solução SBF descartada, a vidraria cuidadosamente lavada e então se inicia a preparação de uma nova solução.

É aconselhável o uso de agitação magnética durante toda a dissolução dos reagentes. Após a dissolução de cada reagente o pH da solução deve ser igual a 2 ou 3. O pH só deverá ser alterado quando o reagente Tris (tris-hidroximetil-amino-metano) for adicionado à solução. Neste momento a temperatura encontra-se na faixa de 37°C, e o pH aumentará para 7,4. Um pHmetro calibrado deve ser utilizado. Após a adição do tris o volume da solução deverá ser completada a 1000 ml com adição de água destilada e deionizada. Um importante indicativo do sucesso da preparação é a manutenção da limpeza e ausência de cristais ou precipitados em suspensão. Concluída esta etapa o SBF deverá ser armazenado em recipiente plástico com tampa e mantido sob refrigeração de 5°C a 10°C, devendo ser usado num prazo de 30 dias após a preparação.

#### 4.3.3.2 Preparação da solução SBF e Recobrimento das amostras

A solução SBF utilizada neste estudo foi à proposta por Abe e adaptada pelo grupo de biomateriais do Instituto de Química da UNESP de Araraquara.

A Tabela 5 apresenta os reagentes utilizados seguindo a ordem de adição, quantidade e concentração iônica necessários para o preparo de 1 litro da solução.

Tabela 5 - Sequência e concentrações iônicas das soluções com molaridade SBF 1,0M 1,5M utilizadas neste trabalho para preparar 1L da solução

<b>Ordem de uso das substancia</b>	<b>Substância</b>	<b>Concentração 1,0</b>	<b>Concentração 1,5</b>
1	NaCl	8,035g	12,053g
2	NaHCO <sub>3</sub>	0,355g	0,533g
3	KCl	0,255g	0,383g
4	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,176g	0,264g
5	MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,311g	0,467g
6	HCl (1,0M)	39 ml	58,5 ml
7	CaCl <sub>2</sub> . .H <sub>2</sub> O	0,387g	0,581g
8	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,072g	0,108g
9	NH <sub>2</sub> C(CH <sub>2</sub> OH) <sub>3</sub> (tris)	6,118g	9,177g
10	HCl (1,0M)	0 a 5 ml	0 a 7,5 ml

Fonte: VERCIK, 2003 (adaptada)

Após a modificação de superfície pelo tratamento químico por 2, 4 e 6 horas, as amostras dos cones de guta-percha DE e TE, foram divididas em dois lotes de seis amostras separadas de acordo com material estudado e o tempo de tratamento químico recebido (Tabela 6). Todas as amostras foram colocadas em potes de polietileno contendo 30 ml da solução SBF, utilizando-se o método da re-imersão, que consiste na imersão em solução 1,0 SBF, por um período 24 horas e então a re-imersão em uma nova solução de 1,5 vezes mais concentrada que a solução anterior com o propósito de acelerar o processo de deposição do filme biocerâmico. Um lote permaneceu na solução 1,5 SBF por um período de 7 dias e o outro lote permaneceu na solução 1,5 SBF por 14 dias. Onde se efetuou a troca da solução a cada 48 horas com o propósito de favorecer as condições de supersaturação da solução mantendo a quantidade de íons em solução. Os ensaios foram realizados em condições fisiológicas, ou seja, a temperatura de 37°C e pH em torno de 7,4. Após o período de imersão, pré-determinadas amostras foram retiradas da solução 1,5 SBF e lavadas com água destilada e em seguida foram secas na estufa a 40°C por 24 horas e encaminhadas para análise.

As técnicas de caracterização utilizadas para análise da microestrutura foram: MEV/ EDS, DRX, FTIR, TS e a análise de Biodegradação.

## 4.4 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

### 4.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O equipamento de microscopia eletrônica de varredura (MEV) consiste de uma fonte geradora de elétrons que são colimados ao passar por lentes eletromagnéticas sendo focalizadas em uma região muito pequena da amostra. Bobinas posicionadas adequadamente promovem a varredura do feixe sobre a área examinada. A interação feixe-amostra gera uma série de sinais que são captados por um detector. A grande vantagem desta análise é sua excelente profundidade de foco, o que permite a obtenção de imagens de diferentes superfícies com alta definição.

O MEV é capaz de formar imagens a partir de diferentes mecanismos de contraste, como contraste de número atômico (ou composicional) e o contraste topográfico, sendo este o mais utilizado no MEV. O contraste topográfico é próprio para superfícies que contêm relevos, utilizando-se sinais produzidos pelos elétrons secundários que são elétrons de baixa energia oriundos da superfície da amostra permitindo a visualização de detalhes topográficos com elevada definição. No contraste por elétrons retro espalhados, os elétrons coletados são de maior energia provenientes de uma profundidade maior da amostra e cuja energia é altamente dependente do número atômico das espécies envolvidas podendo ser usados para identificar composições químicas diferentes (FOOK, 2005).

As imagens das amostras dos cones de guta-percha obtidas pela microscopia eletrônica de varredura (MEV), foi realizada através do equipamento de bancada modelo TM-1000 da marca Hitachi, com aumento de 10000x, profundidade focal de 1mm, resolução de 30nm e energia fixa de 15kV, baixo vácuo pressão variada (1 a 270Pa).

#### **4.4.2 Espectroscopia por Dispersão de Energia de Raios X (EDS)**

O EDS é um acessório essencial no estudo de caracterização microscópica de materiais, no qual os elementos químicos presentes numa amostra podem ser identificados através do espectro de raios X emitido pela amostra.

O EDS possibilita a observação do amplo espectro de raios X de modo simultâneo o que possibilita a análise qualitativa e semi-quantitativa dos constituintes principais da amostra, ou seja, o mapeamento da composição química das superfícies nos diferentes tempos de tratamento. O diâmetro reduzido do feixe permite a determinação da composição mineral em amostras de tamanho reduzido ( $< 5 \mu\text{m}$ ), permitindo uma análise quase que pontual.

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

A caracterização por Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) envolve radiação que promove transições nas moléculas, entre os níveis de energia rotacional e vibracional, a partir do menor estado de energia atômica. O espectro de infravermelho atua na região compreendida entre 2,5 e 25 $\mu\text{m}$ , o que equivale ao intervalo entre 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a radiação infravermelha intermediária, utilizando-se neste caso a transformada de Fourier (TADDEI; TINTI; FINI, 2001).

Esta análise foi realizada utilizando-se um equipamento modelo Spectrum 400FT Mid-IR Perkin Elmer com varredura de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ .

Para a interpretação das bandas de absorção obtidas para os grupos presentes na superfície das amostras dos cones de guta-percha e nos recobrimentos de apatitas, utilizou-se dados da literatura, (FOOK, 2005; THOMAZINI, 2009), as bandas e suas frequências de absorção estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Frequências características dos cones de guta-percha e dos fosfatos de cálcio.

<b>Grupos</b>	<b>Número de Ondas (cm-1)</b>
<b>Cones de Guta-Percha</b>	
<b>Grupo do nitrogênio, resinas e ácidos graxos.</b>	3400-3300
<b>C-H</b>	2900-2850
<b>CH<sub>3</sub></b>	2950-2870
<b>C-H<sub>2</sub></b>	2900-2870
<b>C=C</b>	1680-1630 e 1380
<b>C=O</b>	1300-1100
<b>C-C</b>	1190
<b>Grupo dos sulfatos</b>	800-600
<b>Grupo do Oxido de zinco</b>	Em torno de 500
<b>Fosfato de cálcio</b>	
<b>PO<sub>4</sub><sup>3-</sup></b>	474, 562, 580, 640 e 960-1200
<b>P-OH</b>	527, 870 e 910-1040
<b>CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>(substituição do tipo A)</b>	880, 1450 e 1514
<b>CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>(substituição do tipo B)</b>	870, 1412 e 1465
<b>OH- (livre)</b>	630 e 3569
<b>OH- (H<sub>2</sub>O)</b>	1600-1650 e 3000-3400

Fonte: Adaptada (CASTANHA, 2008; APARECIDA, 2008)

#### 4.4.4 Análise de Molhabilidade

A realização do tratamento sobre a superfície dos cones de guta-percha pode modificar as propriedades de molhabilidade e o desempenho biológico, além de modificar sua topografia de superfície. As superfícies hidrofílicas apresentam, de maneira geral, uma melhor afinidade por células e menor por proteínas em relação à superfície hidrofóbica e o aumento da molhabilidade melhora a interação entre a superfície do substrato e o meio biológico, devido à menor diferença da energia de superfície entre os mesmos.

O ângulo formado entre a superfície sólida e a tangente para a superfície líquida na linha de contato com o sólido é denominado ângulo de contato. Por convenção, este ângulo é medido na fase líquida, o líquido empregado deve ter alto valor de tensão superficial e baixa velocidade de evaporação para que as gotas sobre a superfície resultem em ângulos de contato de fácil medida. Usa-se normalmente água deionizada ou destilada (polar). A molhabilidade é determinada a partir do ângulo de contato de equilíbrio. Conforme

tabela abaixo, uma superfície é considerada hidrofílica quando sua interação com a água for intensa, resultando em um ângulo menor que  $90^\circ$ , e as interações fracas da superfície com a água caracterizam a superfície como hidrofóbica, apresentando ângulo maior que  $90^\circ$ .Ese o ângulo for igual a  $0^\circ$  há uma molhabilidade completa. Portanto o ângulo de contato é função da tensão superficial entre o sólido e o líquido. Em muitos estudos a água é utilizada como líquido teste para as variações no ângulo de contato e os ângulos são usados para monitorar mudanças na composição das diferentes superfícies. Desde que a molhabilidade seja dependente das condições físico-químicas da superfície do material, a utilização desta técnica é procedente para a verificação das condições de molhabilidade oferecida pela superfície nas diversas condições submetidas (FOOK, 2005).

A molhabilidade da superfície constitui em um dos parâmetros determinantes que vão afetar na resposta biológica, influenciando os fenômenos de adsorção de proteínas, coagulação sanguínea e a adesão de bactérias e de células (APARECIDA, 2008).

Tabela 8 -Ângulos e condições de molhamento.

<b>Ângulo de contato</b>	<b>Condições de molhamento</b>
$\theta = 0$	molhamento completo
$0 < \theta < 90^\circ$	molhamento parcial
$\theta > 90^\circ$	não há molhamento

Fonte: Adaptada (Park, 1992)

#### 4.4.5 Difractometria de Raios X (DRX)

As técnicas de difração de raios X são muito utilizadas na caracterização de materiais como cerâmicas, minerais e polímeros. Essas técnicas podem ser empregadas para identificar as fases cristalinas presentes nas amostras de diversos tipos de materiais, fornecendo informações sobre o estado físico das amostras, como por exemplo: tamanho de grão, textura e a perfeição cristalina. Trata-se de uma técnica é rápida e não destrutiva (APARECIDA, 2006).

O padrão de difração é único para cada tipo de cristal, desta forma é possível descobrir a estrutura cristalina de materiais por DRX.

Um difratograma de qualquer material pode ser a superposição de dois ou mais padrões de difração. Assim para descobrir que materiais formam uma determinada amostra, devemos testar simulações diferentes de materiais até obter um padrão de difração que coincida com o padrão da amostra na posição e intensidade dos picos. Estas simulações são realizadas com programa computacionais específicos (SANTOS JUNIOR, 2005).

As fases cristalinas das amostras dos cones de guta-percha antes e após o tratamento químico e após a deposição do filme cerâmico foram avaliadas por um difratômetro de raios X SHIMADZU (modelo XRD 6000m), aplicando-se uma varredura angular entre 10 a 80°, na montagem de Bragg-Brentano, utilizando-se radiação de Cu (Kalfa1) com passo de 0,05(2 $\theta$ ), e o tempo de passo foi de 1.0 segundos para cada amostra.

A interpretação dos difratogramas de raios X, quanto a caracterização das fases presentes nos revestimentos, foi realizada comparando-os com as fichas padrões de cada fase presente na base de dados mantida pelo *International Committee for Diffraction Data*, (ICDD). A Tabela 9 apresenta os números das fichas padrões utilizada neste trabalho.

Tabela 9 - Números das fichas padrões da base de dados ICDD utilizadas para identificar as fases de a apatita presentes nas amostras.

<b>Fases de apatita</b>	<b>Número das fichas padrões</b>
Hidroxiapatita deficiente em cálcio	
$\text{HA}_{\text{D}}\text{Ca}_{8,86}\text{Mg}_{0,41}(\text{PO}_4)_2$	86-740
Fosfato de cálcio amorfo – ACP	18-303
Fosfato octacálcico – OCP	26-1056
Apatita carbonatada do tipo A	35-180
Apatita carbonatada do tipo B	19-272

Fonte APARECIDA, 2006 (adaptada)

#### 4.4.6 Ensaio *in vitro* de Biodegradação Enzimática

Para o ensaio de biodegradação enzimática empregou-se como base as normas ASTM F1635-04 *Standard teste Method for in vitro Degradation Testing of Hydrolytically Degradable Polymer Resins and Fabricated Forms for Surgical Implants* (2010).

As amostras dos cones de guta-percha foram desinfetados utilizando álcool 70%. Pesados em balança analítica e para realização desse estudo, as amostras foram divididas em grupos: O 1º grupo contendo uma solução de lisozima/Phosphate Buffered Saline – PBS (solução tampão) com concentração de 1,5mg/mL, o 2º grupo contendo apenas a solução de PBS para controle.

Foram utilizados 4 cones de guta-percha da marca distribuídos tanto para a solução tampão PBS como para a solução de PBS com lisozima, divididos em quatro lotes, totalizando 64 cones, 16 cones para cada lote. Os cones de guta-percha foram incubados em estufa microbiológica, à temperatura de 37°C, sendo retiradas da estufa após 07 dias (1º lote), 14 dias (2º lote), 21 dias (3º lote) e 28 dias (4º lote), seguindo um procedimento de lavagem em água destilada, secagem por 24 horas em estufa a 40°C e pesagem em balança analítica. As diferenças percentuais das massas antes e após o ensaio forneceram os resultados referentes à degradação ou não dos cones de guta-percha, observados a partir da média de ensaios repetidos das cinco amostras.

A lisozima é uma enzima encontrada em fluidos corpóreos como a saliva e a lágrima, além de ser encontrada livremente dissolvida em grande parte dos tecidos. Sua concentração, no entanto, aumenta na presença de reação inflamatória já que é sintetizada por macrófagos e secretada nos lisossomos, auxiliando na remoção de restos celulares e bacteriano do local da inflamação. A concentração enzimática utilizada, neste ensaio, foi 10 vezes maior que a encontrada no corpo humano (FREIER *et al.*, 2005).

O peso remanescente das amostras foi avaliado utilizando a equação (3) e forneceram os resultados referentes à degradação dos cones de guta-percha.

O peso remanescente (%) =  $100 \cdot \frac{M_f}{M_o}$  (sendo  $M_o$  a massa da amostra seca e  $M_f$  a massa após incubação).

$$\text{Peso Remanescente (\%)} = 100 \cdot \frac{M_f}{M_o}$$



## 5 RESULTADOS e DISCUSSÃO

### 5.1 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA ESPECTROSCOPIA POR ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS X (MEV/EDS)

Os resultados das caracterizações serão apresentados sempre na seguinte ordem: MEV/EDS, DRX, FTIR e TS. Após o tratamento químico, MEV/EDS, TS, FTIR e a Biodegradação. Após a deposição do filme biocerâmico, MEV/EDS, DRX e FTIR.

As Figuras 7 e 8 e as Tabelas 9 e 10 apresentam os resultados das análises por MEV e EDS das amostras dos cones de guta-percha DE e TE antes do tratamento químico.

Figura 7 - Micrografia (MEV) das amostras dos cones de guta-percha DE antes do tratamento químico (1500X).

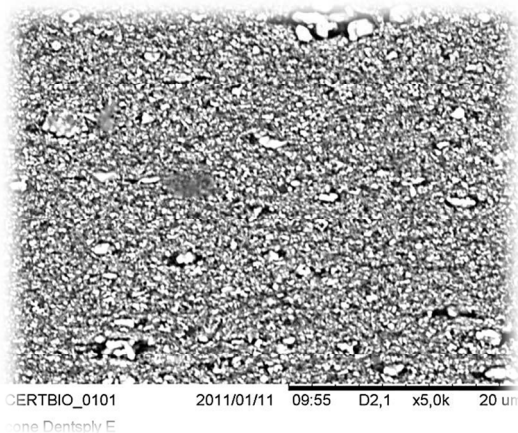


Tabela 9 - Microanálise elemental por EDS do Cone DE a 2000x.

<i>Elemento</i>	<i>Cone DE - Peso massa (%)</i>
Zinco	59,20
Carbono	27,76
Oxigênio	7,73
Bário	3,55
Enxofre	1,06
Alumínio	0,35
Fosforo	0,35
Total:	100%

Figura 8 - Micrografia (MEV) das amostras dos cones de guta-percha DE antes do tratamento químico (1500X).

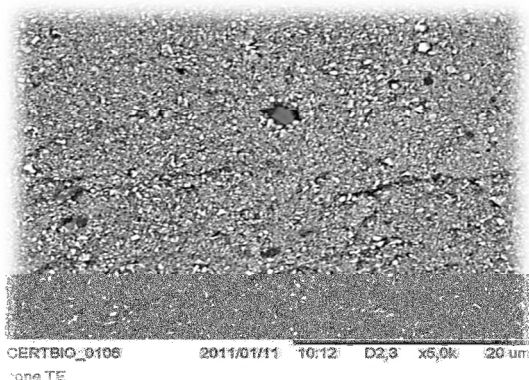


Tabela 10 - Microanálise elemental por EDS do Cone TE a 2000x.

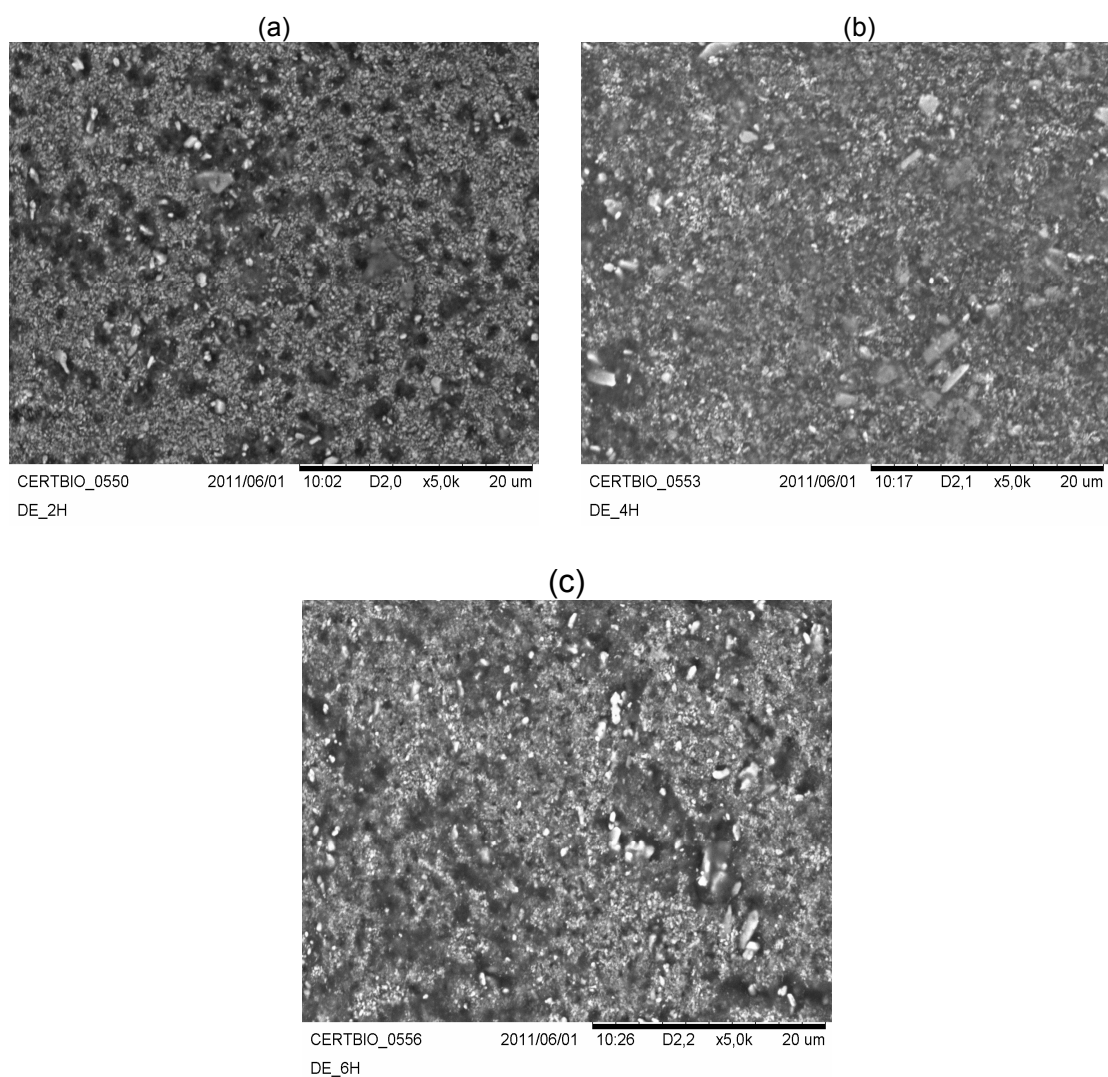
<i>Elemento</i>	<i>Cone TE - Peso massa (%)</i>
Zinco	84,26
Carbono	13,73
Oxigênio	2,01
Total:	100%

Analisando as micrografias apresentadas na figura 7 e 8, observa-se uma microestrutura porosa constituída de partículas micrométricas dispersas em toda superfície das amostras e presença de poros de tamanhos variados.

A análise por EDS das amostras dos cones DE (Tabela 9 TE e Tabela 10 DE) revelou a presença do óxido de zinco (Zn) em maior concentração. Além da presença dos elementos oxigênio (O), alumínio (Al), Silício (Si) e enxofre (S). Para o cone DE, além dos elementos já citados, observa-se a presença do sulfato de bário ( $\text{BaSO}_4$ ) que também faz parte da composição destes cones.

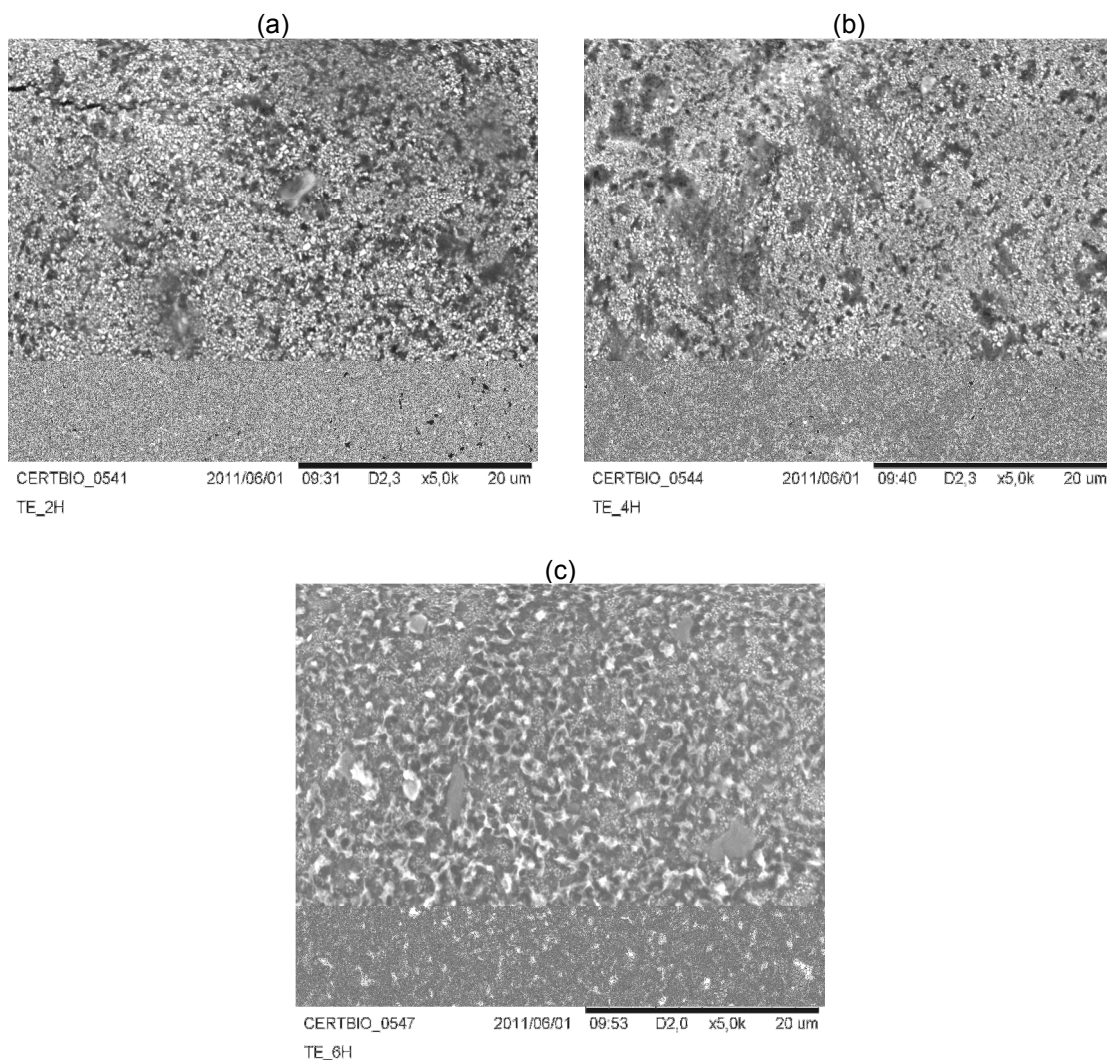
A Figura 9 apresenta os resultados da análise por MEV das amostras dos cones de guta-percha DE após o tratamento químico nos períodos de: 2, 4 e 6 horas

Figura 9 - Micrografias das amostras dos cones de guta-percha DE após o tratamento químico por: (a) 2h e (b) 4h e (c) 6h. (5000X).



A Figura 10 apresenta os resultados da análise por MEV das amostras dos cones de guta-percha TE após o tratamento químico por: 2,4 e 6 horas.

Figura 10 - Micrografias das amostras dos cones de guta-percha TE após o tratamento químico por: (a) 2h e (b) 4h e (c) 6h. (5000X)



Após o tratamento químico por 2, 4 e 6 horas, observou-se em toda a superfície das amostras dos cones de guta-percha DE e TE (Figura 9 e 10), uma modificação na distribuição das partículas e um aumento do tamanho e número de poros, atribuído são efeito do processo de oxidação pelo peróxido de hidrogênio, não apresentando diferenças significativas entre as marcas comerciais avaliadas. No entanto a microestrutura apresentada corrobora com os

resultados obtidos por Aparecida 2008, quando empregou a solução de  $H_2O_2$  a 30% com a finalidade de modificar a superfície do PEUAPM.

A Figura 11 (a, b, e c) e as Tabelas 11, 12 e 13, apresentam os resultados das análises por MEV e EDS das amostras dos cones de guta-percha DE após imersão em 1,5 SBF por 7 dias.

Figura 11 - Micrografias das amostras dos cones de guta-percha DE após tratamento químico por (a) 2 e (b) 4 e (c) 6 horas e a imersão em 1,5 SBF por 7 dias (5000X).

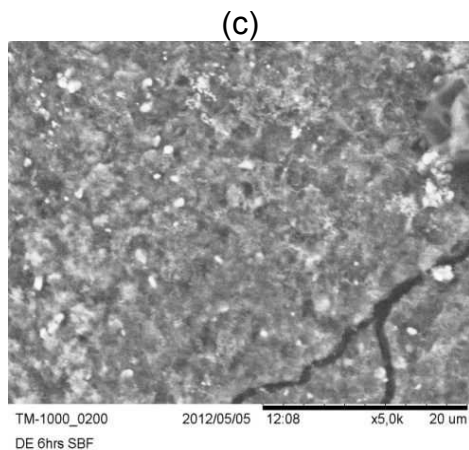
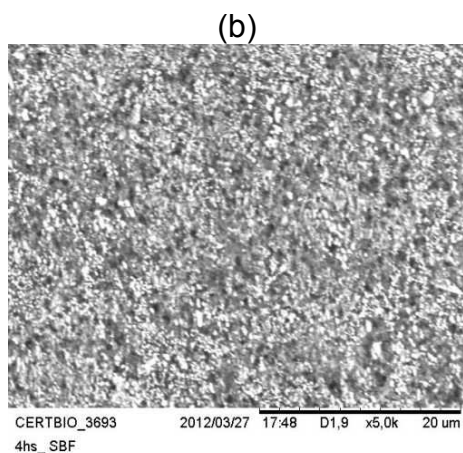
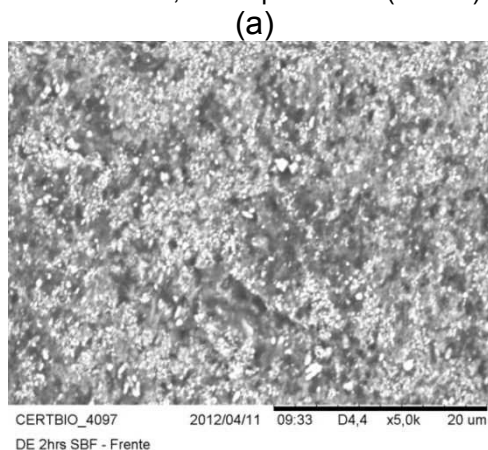


Tabela 117 - Microanálise elemental por EDS do Cone DE - 2hrs +1,5 SBF – 7 dias a 2000x.

<i>Elemento</i>	<i>DE - 2 hrs + 1,5 SBF 7 dias Peso em massa (%)</i>
Zinco	54,15
Carbono	27,98
Oxigênio	9,01
Bário	3,74
Silício	1,69
Fosforo	1,37
Cálcio	1,28
Enxofre	0,48
Cloro	0,30
<b>Total:</b>	<b>100%</b>

Tabela 12 - Microanálise elemental por EDS do Cone DE - 4hrs +1,5 SBF – 7 dias a 2000x.

<i>Elemento</i>	<i>DE - 4 hrs 1,5 SBF 7 dias Peso em massa (%)</i>
Zinco	56,04
Carbono	12,62
Oxigênio	10,68
Bário	2,68
Silício	12,33
Fosforo	3,11
Cálcio	2,06
Enxofre	0,48
<b>Total:</b>	<b>100%</b>

Tabela 13 - Microanálise elemental por EDS do Cone DE - 6hrs +1,5 SBF – 7 dias a 2000x.

<i>Elemento</i>	<i>DE-6 hrs 1,5 SBF 7 dias Peso em massa (%)</i>
Zinco	59,82
Carbono	13,93
Oxigênio	15,70
Bário	3,83
Fosforo	3,89
Cálcio	1,21
Enxofre	0,66
Cloro	0,96
<b>Total:</b>	<b>100%</b>

A Figura 12 (a, b, e c) e as Tabelas 14, 15 e 16, apresentam os resultados das análises por MEV e EDS das amostras dos cones de guta-percha TE após imersão em 1,5 SBF por 7 dias.

Figura 12 - Micrografias das amostras dos cones de guta-percha TE após tratamento químico por (a)2,h(b)4h e(c) 6 horas e imersão em 1,5SBF por 7 dias. (5000X).

(a)

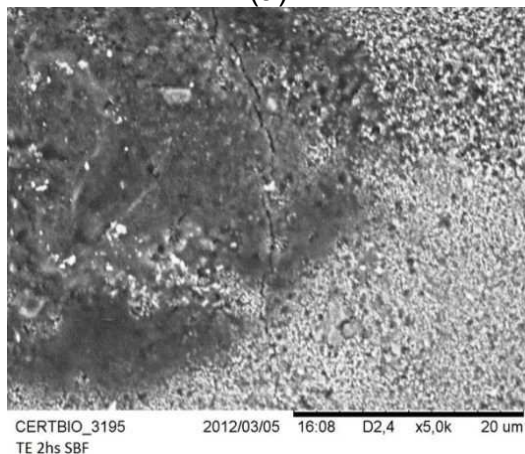


Tabela 14 - Microanálise elementar por EDS  
Cone TE - 2hrs +1,5 SBF – 7 dias (2000x).

<b>Elemento</b>	<b>TE - 2 hrs +1,5SBF7 Peso em massa (%)</b>
Zinco	79,55
Carbono	8,51
Oxigênio	5,98
Fosforo	3,75
Cálcio	2,21
Total:	100%

(b)

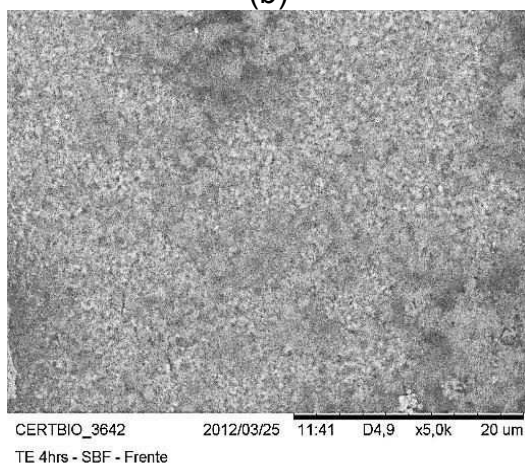


Tabela 158 - Microanálise elementar por EDS  
Cone TE - 4hrs +1,5 SBF – 7 dias (2000x).

<b>Elemento</b>	<b>TE - 4 hrs+1,5SBF7 Peso em massa (%)</b>
Zinco	77,72
Carbono	9,26
Oxigênio	4,75
Fosforo	3,70
Cálcio	3,02
Cloro	1,55
Total:	100%

(c)

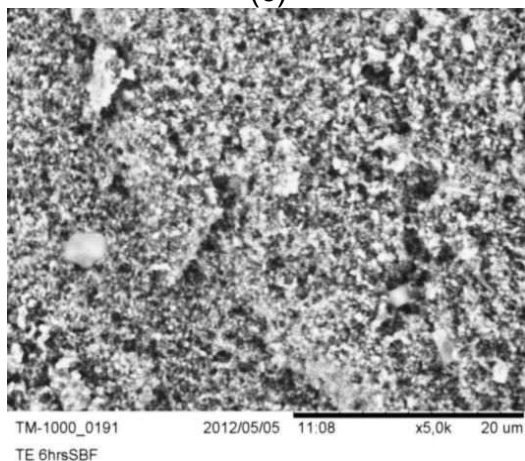


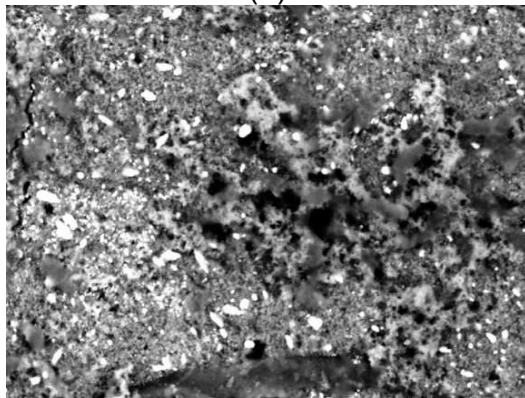
Tabela 16 - Microanálise elementar por EDS  
Cone TE - 6hrs +1,5 SBF – 7 dias (2000x).

<b>Elemento</b>	<b>TE - 6 hrs + 1,5SBF7 Peso em massa (%)</b>
Zinco	63,49
Carbono	10,63
Oxigênio	12,16
Fosforo	7,58
Cálcio	4,02
Cloro	2,12
Total:	100%

A Figura 13 e as Tabelas 17, 18 e 19, apresentam os resultados das análises por MEV e EDS das amostras dos cones de guta-percha DE após a imersão em 1,5 SBF por 14 dias.

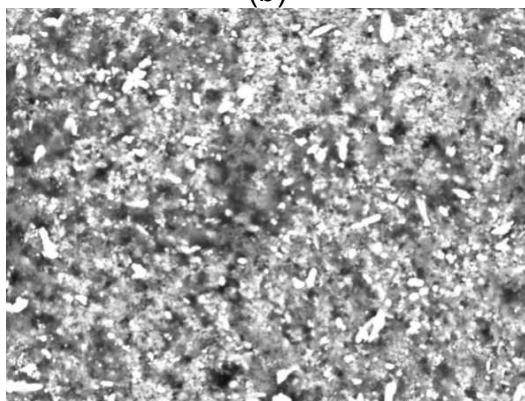
Figura 13 - Micrografias das amostras dos cones de guta-percha DE após tratamento químico por (a) 2h, (b) 4h e (c) 6 horas e imersão em 1,5 SBF por 14 dias. (5000X).

(a)



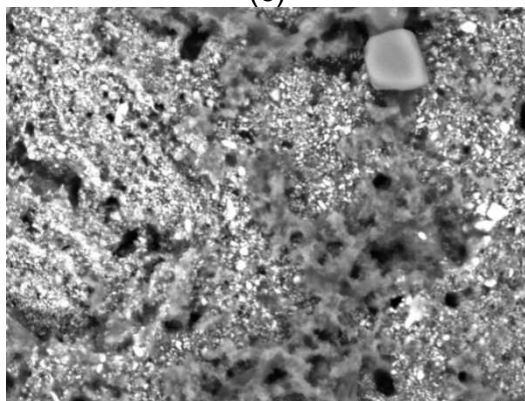
CERTBIO\_2186 2013/01/15 16:14 D4,4 x5,0k 20 um  
DE 2h SBF 14

(b)



CERTBIO\_2183 2013/01/15 16:05 D4,1 x5,0k 20 um  
DE 4h SBF 14

(c)



CERTBIO\_2181 2013/01/15 15:55 D3,8 x5,0k 20 um  
DE 6h SBF 14

Tabela 97 - Microanálise elemental por EDS  
Cone DE - 2hrs +1,5 SBF - 14 dias (2000x).

<i>Elemento</i>	<i>DE - 2 hrs + 1,5 SBF 14 dias Peso em massa (%)</i>
Zinco	66,4
Carbono	4,5
Oxigênio	1,2
Bário	19,4
Fosforo	0,7
Cálcio	3,4
Enxofre	0,8
Cloro	1,7
Total:	100%

Tabela 108 - Microanálise elemental por EDS  
Cone DE - 4hrs +1,5 SBF - 14 dias (2000x).

<i>Elemento</i>	<i>DE - 4 hrs + 1,5 SBF 14 dias Peso em massa (%)</i>
Zinco	65,1
Carbono	17,0
Oxigênio	8,2
Fosforo	2,5
Cálcio	4,2
Cloro	3,0
Total:	100%

Tabela 119 - Microanálise elemental por EDS  
Cone DE - 6hrs +1,5 SBF - 14 dias (2000x).

<i>Elemento</i>	<i>DE - 6 hrs + 1,5 SBF 14 dias Peso em massa (%)</i>
Zinco	46,6
Carbono	22,2
Oxigênio	3,6
Fosforo	1,0
Cálcio	0,9
Cloro	13,9
Total:	100%

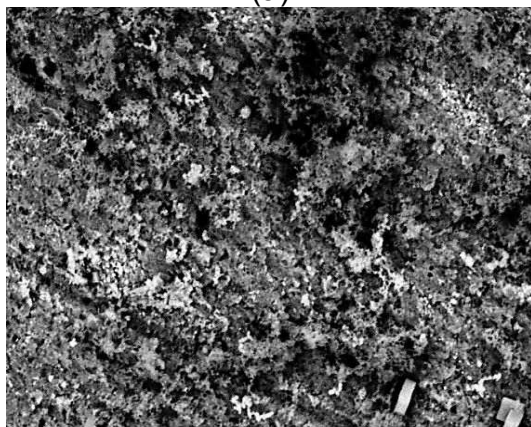
A avaliação dessas imagens mostra que após a imersão na solução 1,5 SBF por 7 dias, nos diferentes tempos de tratamento químico, os cones de guta-percha DE e TE (Figuras 11 e 12), apresentaram a formação de uma camada constituída por partículas de forma globular de tamanhos diferentes, estimados entre 1 e 5 micra, que vão se aglomerando formando um revestimento plano e homogêneo composto por diferentes fases de apatitas. Este resultado corrobora com o DRX que confirmou a presença das fases: OCP, ACP e Hap. Carbonatada. Os pontos claros são relativos a apatitas enquanto que as regiões escuras se referem ao substrato e/ou região com falta de uniformidade da camada depositada na superfície das amostras.

Os espectros de EDS revelaram a presença dos elementos cálcio e fosforo em todas as amostras dos cones DE e TE. Estes resultados indicam que houve deposição do filme biocerâmico na superfície das amostras.

A Figura 14 e as Tabelas 20, 21 e 22, apresentam os resultados das análises por MEV das amostras dos cones de guta-percha TE após a imersão em 1,5 SBF por 14 dias.

Figura 14 - Micrografias das amostras dos cones de guta-percha TE após tratamento químico por (a) 2h e (b) 4h e (c) 6 horas e imersão em 1,5SBF por 14 dias. (5000X).

(a)



CERTBIO\_2171

2013/01/15

15:20

D4,5

x5,0k

20 um

TE 2h SBF 14

Tabela 20 - Microanálise elemental por EDS Cone TE - 2hrs +1,5 SBF – 14 dias (2000x).

<i>Elemento</i>	<i>TE - 2hrs + 1,5SBF 14 Peso em massa (%)</i>
Zinco	52,74
Carbono	1,47
Oxigênio	2,54
Fosforo	4,87
Cálcio	5,10
Total:	100%

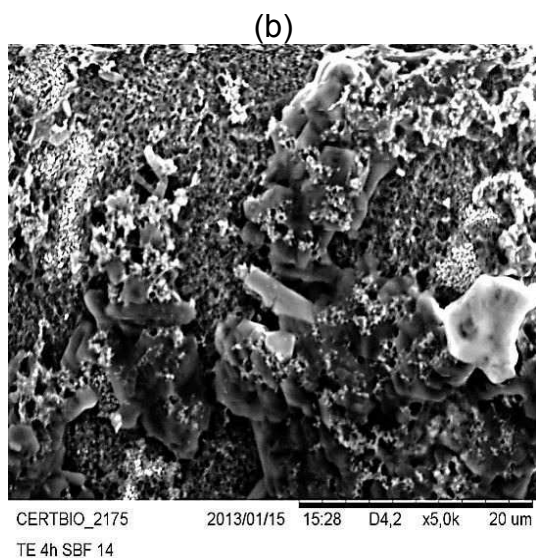


Tabela 21 - Microanálise elementar por EDS  
Cone TE - 4hrs +1,5 SBF – 14 dias (2000x).

<i>Elemento</i>	<i>TE - 4 hrs + 1,5SBF14</i> <i>Peso em massa (%)</i>
Zinco	58,6
Carbono	4,9
Oxigênio	8,8
Fosforo	9,4
Cálcio	9,2
Cloro	5,6
Total:	100%

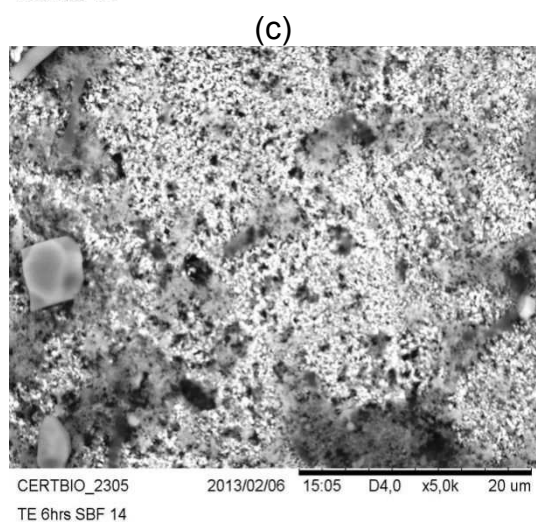


Tabela 122 - Microanálise elementar por EDS  
Cone TE - 6hrs +1,5 SBF – 14 dias (2000x).

<i>Elemento</i>	<i>TE - 6 hrs + 1,5SBF14</i> <i>Peso em massa (%)</i>
Zinco	46,6
Carbono	6,0
Oxigênio	7,2
Fosforo	3,1
Cálcio	6,0
Cloro	14,1
Total:	100%

Após a imersão na solução 1,5 SBF 14, observa-se a formação de camadas de apatias sobrepostas, com um maior número de aglomerados, e esses aglomerados formados, possuem tamanhos estimados entre 1 a 6 micras e são distribuídos de forma mais densa e homogênea, não se distinguindo bem o substrato. Onde se entende que um tempo maior pode promover a formação de uma camada de apatita mais espessa e uniforme. Normalmente, o mecanismo de formação de apatitas, consiste na nucleação de pequenas partículas que começam a se aglomerar tornando-se saturadas e vão se sobrepondo em camadas. Após formação da camada inicia-se uma nova frente de reação com o processo de nucleação e uma nova camada de apatita é formada (AGUIAR; 2007).



Com o aumento do tempo de 7 para 14 dias observou-se que os aglomerados foram se ligando e formando aglomerados maiores até a formação de uma camada que foi recobrimdo a superfície do material. Em algumas amostras (DE 2 horas 1,5 SBF7 e 14), foram observadas à presença de trincas na superfície das amostras, provavelmente decorrente da desumidificação que ocorre em vácuo na preparação e observação das amostras nas análises por MEV. O aumento da espessura da camada formada pode também favorecer o aparecimento de trincas na superfície (APARECIDA, 2008).

Os resultados observados a partir dos espectros de EDS mostraram a presença dos elementos cálcio e fosforo indicando que houve a deposição do filme biocerâmico, e a razão Ca/P calculada foi menor que a 1,67, indicando que a apatita formada pelo método biomimético é deficiente em cálcio.

De acordo com os resultados obtidos da análise por MEV, para os cones de guta-percha DE e TE após tratamento químico por 2, 4 e 6 horas e imersão na solução 1,5 SBF, verifica-se que à medida que o tempo de imersão na solução aumentou de 7 para 14 dias, ocorreu a formação de camadas de apatitas sobrepostas, mais homogêneas e aparentemente mais espessa, depositada na superfície do material estudado. Observa-se que o filme biocerâmico recobriu toda a superfície da amostra, constituindo-se assim, em um tempo adequado para o processo de deposição do filme de apatitas na superfície dos cones de guta-percha DE e TE.

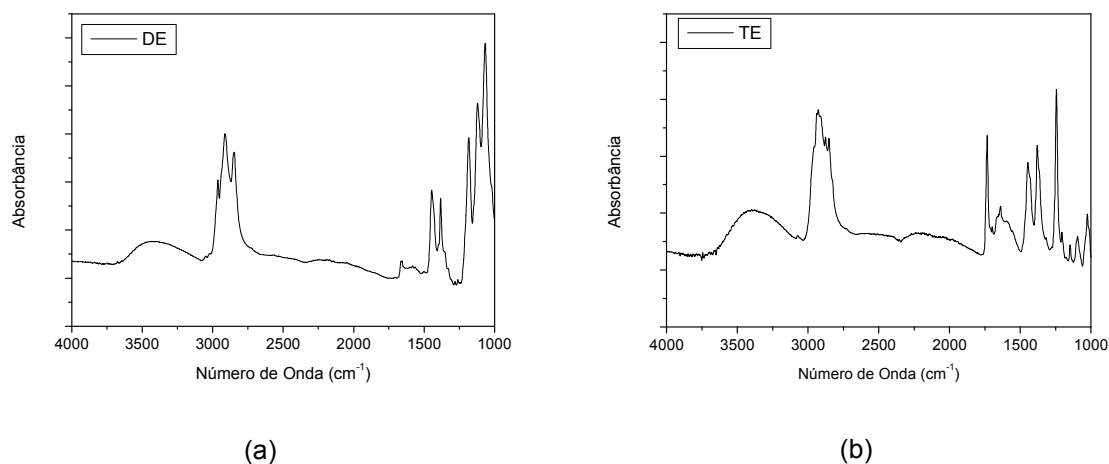
Nos dois tempos estudados porem, a morfologia da camada depositada consistiu de partículas aglomeradas de aspecto globular com diâmetro menor que 10 micras, compatíveis com apatitas biológicas (RESENDE, 2007).

Os resultados da análise por EDS revelaram que a camada depositada, é formada pelos elementos cálcio e fosforo indicando um comportamento bioativo do material estudado. Este resultado demonstra uma possibilidade de interação dos cones de guta-percha com o meio biológico podendo induzir à formação de tecido mineralizado.

### 5.3 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A Figura 15 apresenta os espectros de FTIR das amostras dos cones de guta percha DE e TE antes do tratamento químico com o peróxido de hidrogênio a 30% em massa.

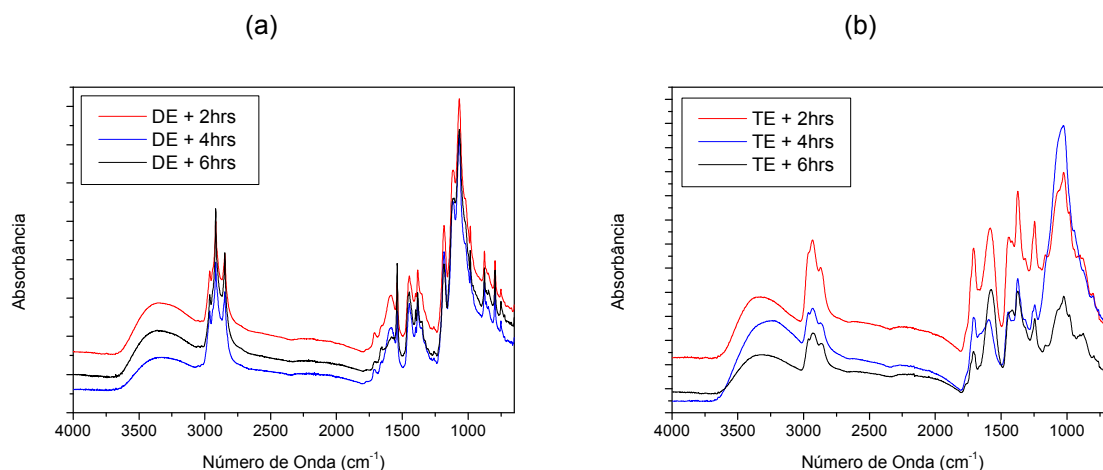
Figura 15 - Espectros na Região do Infravermelho dos Cones de Guta-Percha. (a) Cone de Guta-Percha DE e (b) Cone de Guta-Percha TE.



Os resultados dos espectros do IV das amostras dos cones de guta-percha DE e TE antes do tratamento químico com o peróxido de hidrogênio, apresentaram bandas em torno de  $3400\text{ cm}^{-1}$  correspondentes ao estiramento N-H e O-H dos grupos amina e hidroxilas. Observa-se também, bandas referentes aos grupos CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub> em torno de  $2926\text{-}2852\text{ cm}^{-1}$ . As bandas na região compreendida entre  $1687\text{ e }1645\text{ cm}^{-1}$  correspondem a vibrações dos grupos C=O, e das ligações C-C de em torno de  $1055\text{-}1350\text{ cm}^{-1}$  corroborando com os resultados obtidos por Castanha, (2008).

A Figura 16 apresenta os espectros de FTIR das amostras dos cones de guta percha DE e TE após o tratamento químico com o peróxido de hidrogênio a 30%.

Figura 16 - Espectros do IV dos Cones de Guta-Percha DE (a) e TE (b), após o tratamento químico com peróxido de hidrogênio a 30% nos tempos de 2hs, 4hs e 6hs.

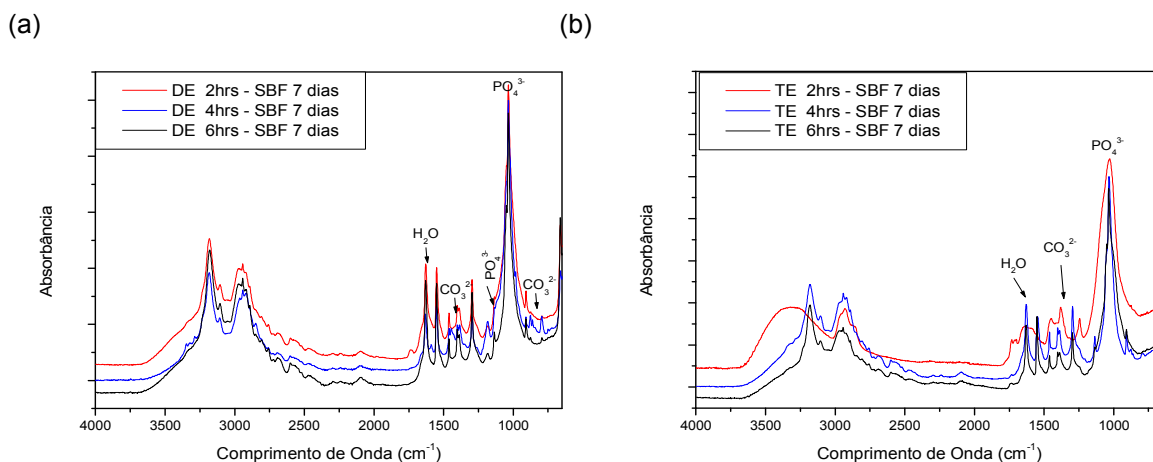


Os resultados obtidos dos espectros de IV das amostras dos cones de guta-percha DE e TE após o tratamento químico por 2, 4 e 6 horas (Figura 16 a e b), apresentaram alterações das bandas características de ligações C-H, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub> em torno de 2900-2850 cm<sup>-1</sup>. Destaca-se no referido espectro, um aumento da intensidade das bandas do grupo carbonila (C=O), compreendidas entre 1772-1718 cm<sup>-1</sup>, referentes a grupamentos ésteres, cetonas, aldeídos e/ou ácidos carboxílicos. Essa região do espectro de IV é considerada importante para avaliação do processo de oxidação dos cones de guta-percha (FERREIRA, 2007).

Este resultado indica que o uso do peróxido de hidrogênio a 30%, por 2, 4 e 6 horas, resultou na formação de novos grupos funcionais e a presença desses grupos constitui-se em um pré-requisito para nucleação e crescimento de cristais de apatitas e a formação do filme biocerâmico (APARECIDA, 2008).

A Figura 17 apresenta os espectros de IV relativos aos cones de guta-percha DE e TE após tratamento químico nos tempos de 2, 4 e 6 horas e imersão na solução 1,5 SBF por 7 dias.

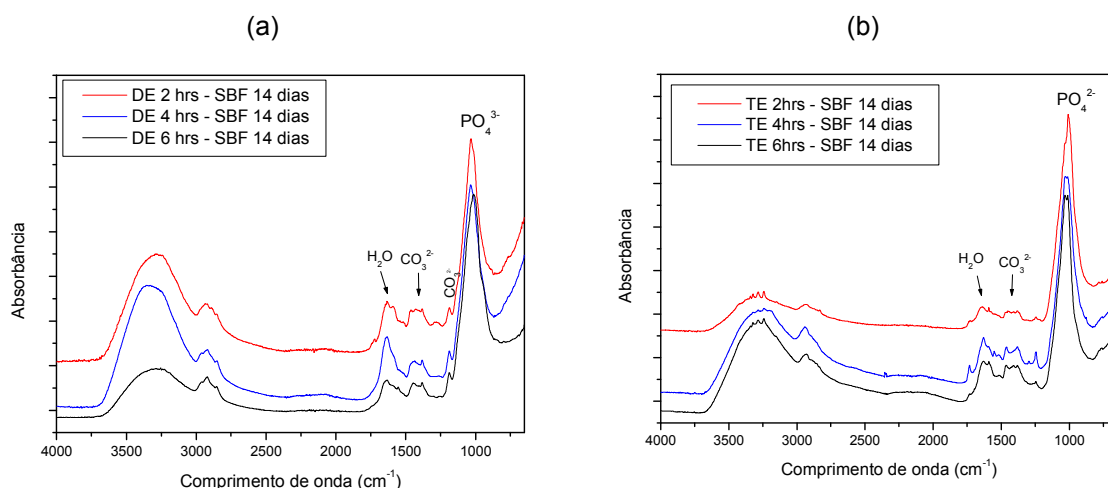
Figura 17 - Espectros de IV dos Cones de Guta-Percha DE (a) e TE (b) após o tratamento químico por 2, 4 e 6 horas e imersão na solução 1,5 SBF por 7 dias.



Os resultados obtidos dos espectros de IV dos cones de guta-percha DE e TE, após tratamento químico por 2, 4 e 6 horas e a imersão em 1,5 SBF 7 dias (figura 17 a e b), apresentaram bandas intensas em torno de 1000 a 1100 cm<sup>-1</sup> referentes às vibrações de estiramento assimétrico ( $\nu_3$ ) do grupo fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), observa-se para o cone DE 4 horas 1,5 SBF 7, a presença de uma banda de absorção em torno de 876 cm<sup>-1</sup>, atribuída à apatita carbonatada do tipo AB. Observam-se para os cones DE e TE após tratamento químico por 2, 4 e 6 horas e imersão na solução 1,5 SBF 7, bandas em torno de 3300, 3400 e 1655 e 1645 cm<sup>-1</sup> que confirmam a presença da molécula de água adsorvida na camada de apatita depositada (SADER, 2010).

A Figura 18 apresenta os resultados obtidos para as amostras dos cones de guta-percha DE e TE após tratamento químico com o peróxido de hidrogênio por 2, 4 e 6 horas e imersão na solução 1,5SBF por 14 dias.

Figura 18 - Espectros de IV dos Cones de guta-percha DE(a) e TE(b) após o tratamento químico por 2, 4 e 6 horas e imersão na solução 1,5 SBF por 14 dias.



De acordo com os resultados obtidos dos espectros de IV dos cones de guta-percha DE e TE, após tratamento químico e a imersão na solução 1,5SBF 14 dias (figura 18 a e b), observa-se bandas intensas em torno de 1000 a 1100  $\text{cm}^{-1}$  referentes às vibrações de estiramento assimétrico ( $\nu_3$ ) do grupo fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ). Para o cone DE 2 horas e DE e TE 4 horas 1,5 SBF 14 (Figura 18 a e b) observa-se bandas de absorção em torno de 1457, 1545, 1557  $\text{cm}^{-1}$  atribuída à apatita carbonatada do tipo A. Ainda para o cone DE 6 horas 1,5SBF 14, observa-se uma banda de absorção em torno de 1409 e 1464  $\text{cm}^{-1}$ , que indicam a presença do grupo  $\text{CO}_3^{2-}$ , relacionado à apatita carbonatada do tipo B (SENA, 2004). Como a fase mineral do osso contém uma quantidade considerável de carbonato, a presença destas bandas é importante, pois pode aumentar a bioatividade da apatita, contribuindo na formação do tecido mineralizado (FOOK, 2012). Segundo Legeros (2002), os níveis do carbonato no osso tem demonstrado que esse íon desempenha um papel importante na bioquímica dos tecidos duros. E ainda, segundo Liao (2005), os efeitos da substituição  $\text{CO}_3^{2-}$  nos parâmetros de rede da apatita estão diretamente relacionados ao constante mecanismo de dissolução e com os ciclos de cicatrização óssea. Para os cones DE e TE após o tratamento químico por 2, 4 e 6 horas e a imersão em 1,5 SBF 14 (18 a e b) observa-se ainda

bandas em torno de 3300, 3200 e 1655 e 1645  $\text{cm}^{-1}$  que confirmam a presença da molécula de água adsorvida na camada da apatita depositada.

De um modo geral os dois espectros de IV não apresentaram diferenças significativas quanto aos diferentes tempos de tratamento químico e nem quanto aos tempos de imersão em SBF estudados neste trabalho. Observa-se que ambos são caracterizados por um número similar de bandas de absorção, apresentando intensidades relativas e variáveis típicas de materiais como apatitas, apresentando assim boa concordância com a literatura.

#### 5.4 TENSÃO SUPERFICIAL/ MOLHABILIDADE

A molhabilidade das superfícies foi investigada através da medida do ângulo de contato antes e após o tratamento químico, observando os efeitos causados pelo peróxido de hidrogênio nos diferentes tempos de tratamento estabelecidos na metodologia.

Os resultados da tensão superficial para os cones de guta-percha DE e TE antes e após o tratamento químico por 2, 4 e 6 horas estão apresentados nas Tabelas 23 e 24. Os valores representam uma média de sete medidas onde foi desprezado o menor e o maior resultado.

Tabela 23 - Valores do ângulo de contato das amostras DE e TE antes do tratamento químico

<b>Amostras</b>	<b>Ângulo de Contato (°)</b>
DE Sem tratamento Químico	59,90 ± 0,56
TE Sem Tratamento Químico	60,60± 0,54

Tabela 24 - Valores do ângulo de contato das amostras DE e TE após tratamento químico por 2, 4 e 6 horas com o peróxido de hidrogênio a 30% em massa.

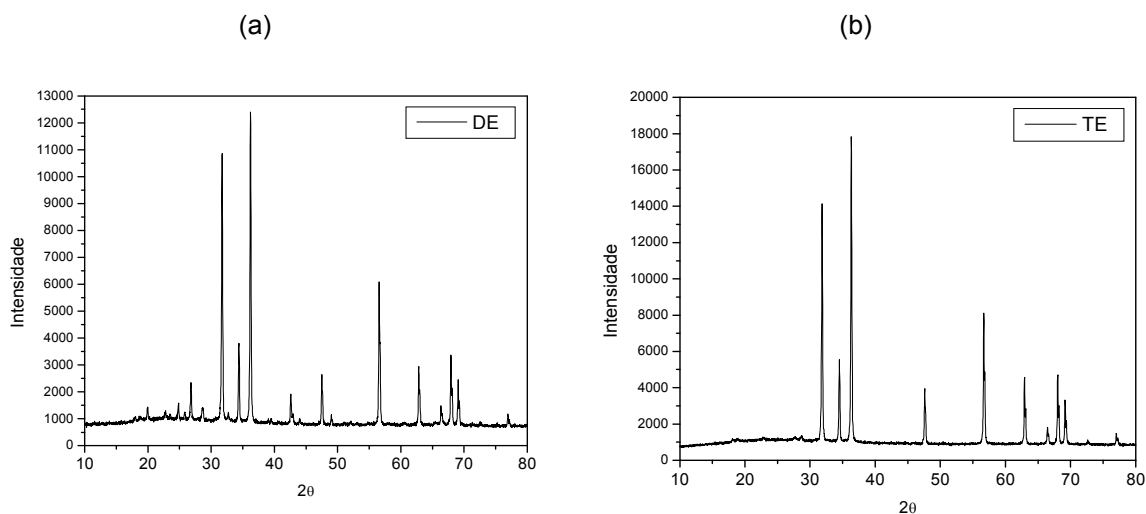
<b>Condição do Material</b>	<b>Ângulo de Contato (°)</b>
DE Tratamento químico por 2 horas.	52,64± 0,22
DE Tratamento químico por 4 horas	51,73± 0,22
DE Tratamento químico por 6 horas	47,57±0,14
TE Tratamento químico por 2 horas	52,46±0,15
TE Tratamento químico por 4 horas	47,54±0,08
TE Tratamento químico por 6 horas	45,54±0,03

Pode-se comparar através da tabela 23 e 24, que as superfícies dos cones de guta-percha DE e TE antes do tratamento químico apresentaram ângulos de contato na faixa de  $60^\circ$ . Após o tratamento químico os cones apresentaram ângulos de contato menores que os observados nas superfícies originais valores entre  $47^\circ$  e  $52^\circ$ , favorecendo assim o caráter hidrofílico do material estudado. Portanto os resultados indicam que a oxidação da superfície dos cones de guta-percha DE e TE pelo tratamento químico com o peróxido de hidrogênio a 30% em massa por 2, 4 e 6 horas, se mostrou efetiva, pois resultou em melhores condições de molhamento (Aparecida 2008). Estes resultados podem ser confirmados a partir dos resultados da análise pelo FTIR onde se pode observar a presença de novos grupos funcionais hidrofílicos na superfície dos cones de guta-percha DE e TE após o tratamento químico com o peróxido de hidrogênio a 30% em massa.

## 5.5 DIFRAÇÃO DE RAIOS X

A Figura 19 (a e b) apresenta os difratogramas de raios X das amostras dos cones de guta percha DE e TE antes do tratamento químico com o peróxido de hidrogênio a 30% em massa.

Figura 19 - Difratogramas de raios X das amostras dos cones de guta percha (a) DE e (b) TE.



Os resultados obtidos da análise por DRX para os cones de guta-percha DE e TE antes do tratamento químico (figura 19 a e b), apresentam picos característicos correspondentes ao óxido de zinco (ZnO) como elemento majoritário. O cone de guta percha DE apresentou, além do óxido de zinco, a presença do sulfato de bário ( $\text{BaSO}_4$ ), este composto também faz parte da composição destes cones.

Estes resultados foram comparados com a base de dados das fichas (36-1451 Zincite) e (24-1035 Barite) do ICDD - *International Committee for Diffraction Data*, (tabela 8), os quais corroboram com os resultados das pesquisas realizadas por Ferreira et al., (2005) e Castanha,(2008).

A Figura 20 e 21 apresentam os difratogramas obtidos da análise por DRX das amostras dos cones guta percha DE e TE após tratamento químico por 2, 4 e 6 horas e a imersão em 1,5SBF por 7 dias.

Figura 20 - Difratogramas obtidos por DRX das amostras dos cones guta percha DE, após o tratamento químico por 2, 4 e 6 horas e a imersão em 1,5 SBF por 7 dias.

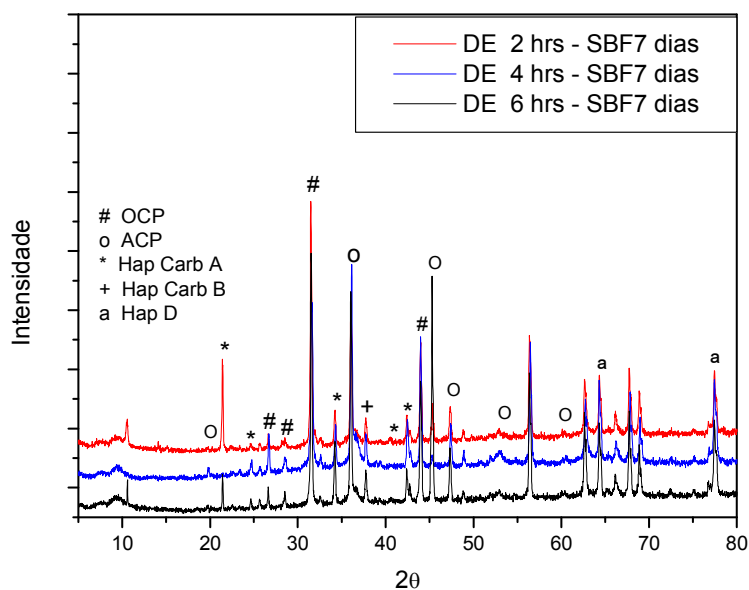
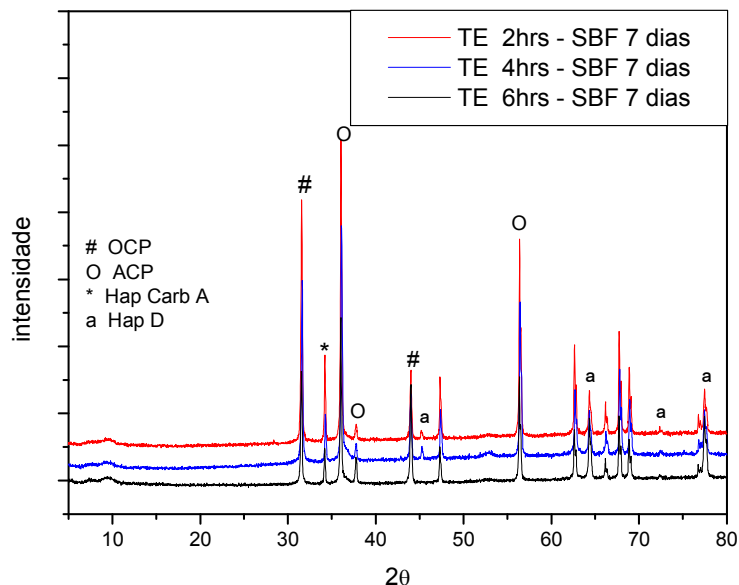




Figura 21 - Difratogramas obtidos por DRX das amostras dos cones guta percha TE, após o tratamento químico por 2, 4 e 6 horas e a imersão em 1,5SBF por 7 dias.



A Figura 22e 23 apresentam os difratogramas obtidos da análise por DRX das amostras dos cones guta percha DE e TE após tratamento químico por 2, 4 e 6 horas e a imersão em 1,5SBF por 14 dias.

Figura 22 - Difratogramas obtidos por DRX das amostras dos cones guta percha DE, após o tratamento químico por 2, 4 e 6 horas e a imersão em 1,5 SBF por 14 dias.

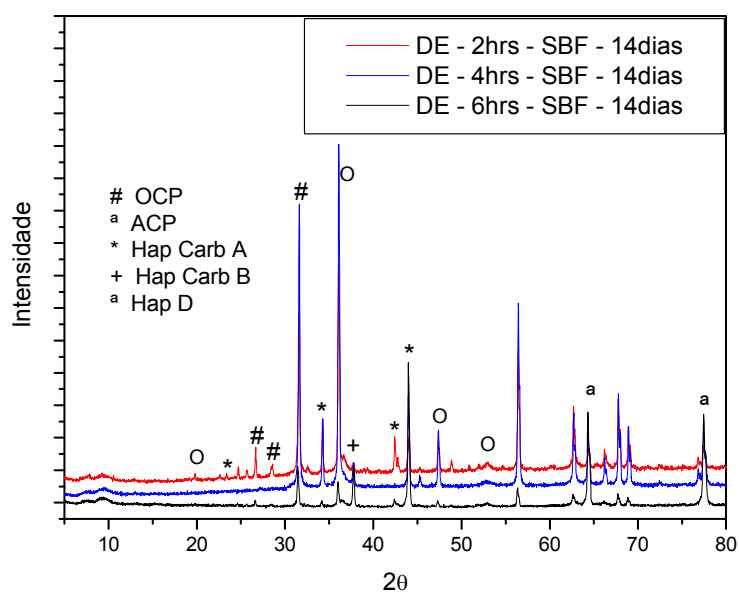
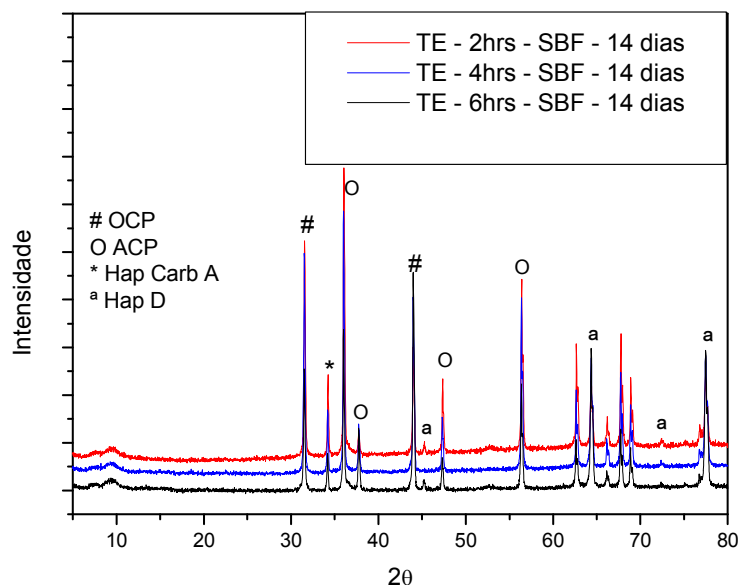


Figura 23 - Difratomogramas obtidos por DRX das amostras dos cones guta percha TE, após o tratamento químico por 2, 4 e 6 horas e a imersão em 1,5 SBF por 14 dias.



A partir dos resultados obtidos da análise por DRX dos cones de gutapercha DE e TE após tratamento químico por 2, 4 e 6 horas, e a imersão na solução 1,5SBF por 7 e 14 dias (Figuras 20, 21, 22 e 23), pode-se observar a presença de um revestimento composto por diferentes fases de apatitas, correspondentes ao fosfato de cálcio amorfo (ACP), fosfato octacálcico (OCP), apatita carbonatada do tipo A e B e hidroxiapatita deficiente em cálcio (HAD), em todos os revestimentos.

A presença do OCP no revestimento biomimético é importante, pois o mesmo tem demonstrado ser mais efetivo na adesão e proliferação de células ósseas, estimulando a regeneração do tecido ósseo logo nos estágios iniciais de aposição óssea. Esta fase é considerada precursora da hidroxiapatita. O OCP tende a se converter em HA quando implantado *in vivo*, o que torna este revestimento mais interessante para engenharia de tecido ósseo (DEKKER et al, 2005).

A partir desses resultados pode-se concluir que os revestimentos obtidos pela utilização da solução 1,5SBF por 7 e 14 dias, são compostos por fases de apatita de importância biológica.

## 5.6 BIODEGRADAÇÃO ENZIMÁTICA

A degradação de um biomaterial em meio biológico é uma das variáveis de maior relevância para sua caracterização, já que esta propriedade está diretamente relacionada com o tempo de vida útil do material após o início de sua utilização no corpo humano (DALLAN, 2005). Os ensaios *in vitro* são testes conduzidos sob condições que simulam o meio com o qual o material estará em contato quando implantado, e permitem avaliar possíveis mecanismos de reações interfaciais entre o material e os tecidos vivos.

Com base nestas características os materiais podem ser classificados como sendo biodegradável ou não biodegradável. O objetivo deste ensaio foi avaliar a ação da solução tampão fosfato (PBS) e PBS com lisozima no processo de degradação *in vitro* dos cones de guta-percha DE e TE antes e após o tratamento químico com o peróxido de hidrogênio.

As Tabelas 25 e 26 apresentam os resultados obtidos, através do cálculo das médias de perda de massa dos cones de guta percha antes e após o tratamento químico com o peróxido de hidrogênio a 30%, na presença do PBS e PBS com concentração de lisozima de 1,5 mg/L.

Tabela 25 - Variação da perda de massa dos cones de guta-percha - PBS.

Ensaio	Variação da perda de massa dos cones de guta-percha – PBS (%)			
	7 dias de ensaio	14 dias de ensaio	21 dias de ensaio	28 dias de ensaio
DE	0,686±0,336	0,764±0,515	0,955±0,634	0,941±0,627
TE	0,548±0,534	0,551±0,242	0,725±0,374	0,889±1,368

Tabela 26 - Variação da perda de massa dos cones de guta-percha – PBS+ Lisozima.

Ensaio	Variação da perda de massa dos cones de guta-percha – PBS+ Lisozima (%)			
	7 dias de ensaio	14 dias de ensaio	21 dias de ensaio	28 dias de ensaio
DE	0,426±0,534	0,780±0,505	0,803±0,086	1,02±0,406
TE	0,734±0,013	0,663±0,253	0,687±0,249	0,714±0,282

Comparando os resultados obtidos da degradação enzimática *in vitro* dos cones de guta-percha DE e TE após o tratamento químico com o peróxido de hidrogênio a 30% em massa, quando expostos a solução tampão de PBS e PBS/lisozima nos períodos de 7, 14, 21 e 28 dias (Tabelas 25 e 26), percebeu-se que os valores, da perda de massa, foram muito baixos e semelhantes para os dois meios estudados. Porém os valores observados para o cone da marca TE mostraram uma menor perda de massa quando comparado com o cone DE, o que pode estar relacionado com a maior cristalinidade dos cones TE, corroborando com os resultados obtidos pela análise por DRX.

Para Ferreira (2007) a biodegradação *in vivo* dos cones de guta-percha é um processo lento que pode ser acelerado por fatores externos, como a presença de lesões periapicais e reabsorções ósseas, o que poderá influenciar negativamente no sucesso clínico do tratamento endodôntico.

## 6 CONCLUSÕES

Considerando a metodologia proposta, os objetivos estabelecidos neste trabalho e a partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

Tratamento químico das amostras dos cones de Guta-Percha DE e TE:

O tratamento químico realizado com o peróxido de hidrogênio mostrou-se adequado para modificação da superfície dos cones de guta-percha DE e TE, sendo suficiente para promover alterações no caráter apolar do material estudado. Este resultado foi confirmado pela análise de TS que apresentou uma diminuição no ângulo de contato e conseqüentemente uma melhoria na hidrofiliabilidade do material. Os espectros de IV confirmaram a presença de novos grupos funcionais hidrofílicos que atuaram como sítios iniciantes e ativos para nucleação dos cristais de apatitas através do método Biomimético, no entanto, a partir desses resultados não se observou diferenças significativas em relação aos dois materiais estudados, e nem em quanto à variação do tempo de tratamento químico pré-estabelecido.

Recobrimento biomimético das amostras dos cones de Guta-Percha DE e TE:

A partir dos resultados obtidos após a imersão em SBF, foi possível comprovar a formação de um revestimento formado por fases de apatitas de importância biológica na superfície dos cones de guta-percha DE e TE nos dois períodos avaliados. Este resultado está de acordo com o DRX que confirmou a presença do OCP, ACP, apatita carbonatada e a hidroxiapatita deficiente em cálcio. Essas são fases precursoras da hidroxiapatita e importantes nos estágios iniciais da formação do tecido mineralizado.

A partir dos resultados obtidos pelo MEV, pode-se concluir que o cone de guta-percha TE após tratamento químico por 4 horas e o tempo 14 dias de imersão em SBF se mostraram satisfatórios para deposição do filme biocerâmico pelo método biomimético.

Quanto ao comportamento de biodegradação, após tratamento químico, os cones de guta-percha DE e TE apresentaram um baixo percentual de perda de massa mostrando uma satisfatória estabilidade nas condições avaliadas neste ensaio. Para o cone da marca TE, o percentual de perda de massa observado foi inferior ao cone da marca DE, possivelmente relacionado à maior cristalinidade do cone TE, confirmada pela análise de DRX.

**REFERÊNCIAS**

AGUIAR, M.C. Estudo comparativo do selamento apical de diferentes cones de guta-percha. Cienc. Odontol. Brás. V. 10, n. 4, p.32-36, 2007.

AGUIAR, A. A. Avaliação de Tratamentos Químicos e Recobrimento Biomimético em Cerâmicas de Alumina-Zircônia. 2007. 104 f. Dissertação (Mestre) - Curso de Ciências na Área de Tecnologia Nuclear, Ipen - Autarquia Associada À Universidade De São Paulo, São Paulo, 2007.

ALMEIDA FILHO, EDSON de et al. Biomateriais: deposição de hidroxiapatita sobre superfície de Ti-cp modificada por aspersão térmica. Quím. Nova, v. 30, n. 5, p.1229-1232, 2007.

AOKI, H. Science and medical applications of hydroxyapatite. Tokyo: Takayama Press System Center, 1991. 230 p.

APARECIDA, A. H. Recobrimento de apatitas empregando-se o método biomimético: estudo da influência dos íons  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $SO_4^{2-}$  e  $HCO_3^-$  - na formação de hidroxiapatita. 2006. 116 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Instituto de Química - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

APARECIDA, A. H.; GUASTALDI, A. C.; FOOK, M. V. L. Development of ultra high molecular weight polyethylene (UHMWPE) porous supports for use as biomaterial in osseous replacement and regeneration. Polímeros, v. 18, n. 4, p.277-280, 2008.

ARJUNAN, V.; SUBRAMANIAN, S.; MOHAN, S. Fourier transform Infrared and Raman spectral analysis of trans-1,4-polyisoprene. Spectrochimica Acta Part A. V. 57, p.2547-2554, 2001.

BAISCH, S.G.; SILVEIRA, L.F.M.; MARTOS, J. Análise radiográfica da repleção de canais secundários submetidos a técnica de obturação. J. Rpg Rev. Pós Grad. V. 13, n. 2, p.139-144, 2006.

BARBIERI, D. B.; PEREIRA, L. P.; TRAIANO, M. L. Controle e avaliação dos tratamentos endodônticos realizados pelos acadêmicos do componente curricular de Endodontia II em 2008/1, do curso de Odontologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina. J. Rpg Rev. Pós Grad., Joaçaba, v. 1, n. 2, p.117-124, 2010.

BARRÈRE, F. et al. Physical and Chemical Characteristics of Plasma-Sprayed and Biomimetic Apatite Coating. Bioceramics, Japan, v. 12, p.125-128, 1999.

BARROS, R. et al. Massa Óssea e Atividade Física na Infância e na Adolescência. Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte, v. 7, p.109-118, 2008.

BERBERT, F.I.; CONSOLARO, A. Influence of root canal dressings and Sealers on repair of apical periodontitis after endodontic treatment. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.Oral Radiol.Endod, v. 93, n. 2, p.184-189, 2002.

BHOWMICK, A. K.; STEPHENS, L. H. HANDBOOK OF ELASTOMEROS. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 2001. 922 p.

BROSCO, V.H. Avaliação "IN VITRO" do Selamento Apical dos Canais Radiculares em Função de Diferentes Técnicas de Obturação. 2002. 154 f. Dissertação (Mestrado) - Área de Endodontia, Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, Bauru, 2002.

CAMPS, J.; ABOUT, I. Citotoxicity testing of endodontic Sealers A new method. J. Endod, v. 29, n. 9, p.585-586, 2003.

CARVALHO, B. M. et al. Tratamentos de superfície nos implantes dentários. Rev. Cir. Traumatol. Buco-maxilo-fac, v. 9, n. 1, p.123-130, 2009.

CASTANHA, E. M. M. Caracterização da Composição, estrutura, morfologia e propriedades térmicas de cones de guta-percha. 2008. 57 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências e Engenharia de Materiais, Departamento de Ciências e Engenharia de Materiais, Ufcg, Campina Grande, 2008.

CHAI, C. S.; BEN-NISSAN, B.. Bioactive Nanocrystalline Sol-Gel Hydroxyapatite Coatings. Journal Of Materials Science: Materials In Medicine, v. 10, p.456-469, 1999.

CHNG, H. K. et al. Properties of a New Root- End Filling Material. J. Endodod, v. 31, p.665-668, 2005.

CHO, S. A.; PARK, K. T. The removal torque of titanium screw insert in rabbit tibia treated by dual acid etching. Biomaterials, v. 24, p.3611-3617, 2003.

COLETO, J. A. M. Ação ante microbiana de desinfetantes em cones de guta-percha e cones sintéticos de polímeros de poliéster. 2006. 49 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Universidade Federal de Taubaté, Taubaté, 2006.

COMBE, E.C.; COHEN, B.D.; CUMMINGS, K. Alpha-and beta-forms of gutta-percha in products for root canal filling. International EndodonticJournal, v. 34, n. 6, p.445-451, 2001.

DALLAN, P. *Síntese e caracterização de membranas de quitosana para aplicação na regeneração da Pele*. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia Química. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2005.

DAVIES, J. E. Understanding peri-implant endosseous healing. Journal of Dental Education, v. 67, n. 8, p. 932-949, 2003.

DE DEUS, Q.D. Endodontia. 5.ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1992. 695 p.



DEKKER, R.J., DE BRUIJN, J.D., STIGTER, M. *et al.* Bone tissue engineering on amorphous carbonated apatite and crystalline octacalcium phosphate-coated titanium discs. *Biomaterials*, v. 26, n. 25, pp. 5231-5239, 2005.

DEONIZIO, M.D.A. *et al.* Avaliação das propriedades Físico-Químicas de cimentos obturadores de canais Radiculares. *Rev. BrásOdontol*, v. 60, p.355-356, 2003.

DESAI, S.; CHANDLER, N. Calcium hydroxide-based root canal sealers: a review. *J Endod*, v. 35, n. 4, p.475-480, 2009.

DOROZHKIN, S. V. Calcium Orthophosphates. *J Mater Sci*, v. 42, n. 4, p.1061-1095, 2007.

DOROZHKIN, S. V.; EPPLE, M. Biological and medical significance of calcium phosphates. *AngewChemInt Ed Engl*, v. 41, n. 17, p.3130-3146, 2002.

DUARTE, M.A.H. *et al.* pH and calcium ion release of 2 root-end filling materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod*, v. 95, p.345-347, 2003.

DUARTE, M.A.H.; DEMARCHI, A.C.O.; MORAES, I.G. Determination of pH and calcium on release provided by pure and calcium hydroxide-containing AHPlus. *IntEndod J*, v. 37, p.42-45, 2004.

ELIAS, C. N.; LIMA, J. H. C. Importância da qualidade da superfície dos implantes osseointegráveis na biofixação. *Rev. Bras. Implant*, v. 7, n. 1, p.21-25, 2001.

ESBERARD, R.M.; CARNES, C.D.; RIO, E.C. pH Changes at the Surface of Root Dentin when Using Root Canal Sealers Containing Calcium Hydroxide. *Journal OfEndodontics*, v. 22, n. 8, p.399-401, 1996.

ESPÍNDOLA, A. C. S. *et al.* Avaliação do grau de sucesso e insucesso do tratamento endodôntico em dentes uni-radiculares. *RevistaGaúcha de Odontologia*, v. 50, n. 3, p.164-166, 2002.

ESTRELA, C. *et al.* Mechanism of Action of Calcium and Hydroxyl Ions of Calcium Hydroxide on Tissue and Bacteria. *Braz Dent J*, v. 6, n. 2, p.85-90, 1995.

ESTRELA, C.; HOLLAND, R. Hidróxido de cálcio: estudo baseado em evidências científicas. *J. Appl. Oral Sci*, Bauru, v. 11, n. 4, p.269-282, 2003.

FELLIPE, W.T.; FELIPPE, M.C.S.; ROCHA, M.J.C. The effect of mineral trioxide aggregate on the apexification and periapical healing of teeth with incomplete root formation. *IntEndod J*, v. 39, p.2-9, 2006.

FERNANDEZ-TRESGUERRES-HERMANDEZ-GIL, I.; ALOBERA-GRACIA, M. A.; DEL CANTO PINGARRON, M.; JEREZ, L. B. Physiology of bone tissue. *Med Oral Patol Oral CIR Bucal*, v. 11, p.: E47-E51, 2006.

FERREIRA, C. M. et al. Brazilian gutta-percha points. Part I: chemical composition and X-ray diffraction analysis. *Braz Oral Res*, v. 19, n. 3, p.193-197, 2005.

FERREIRA, C. M. et al. Brazilian gutta-percha points. Part II: thermal properties. *Braz. Oral Res*, v. 21, n. 17, p.29-34, 2007a.

FERREIRA, M. C. Estudo da composição química, comportamento térmico e degradação do polímero gutta-percha. 2007. 153 f. Tese (Doutorado) - Curso de Clínica Odontológica, Departamento de Endodontia, Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Piracicaba, 2007.

FOOK, M. V. Desenvolvimento da técnica de deposição de hidroxiapatita na superfície de polietileno de ultra-peso molecular para aplicação como biomaterial. 2005. 128 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Físico-química, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.

FOOK, M.V.L. et al. Desenvolvimento de técnica de modificação da superfície do PEUAPM para deposição biomimética de apatita. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v. 2, p.33-41, 2007.

FOOK, Ana Carolina Brasil Marcelino. Produção e Caracterização de Arcabouços Compósitos Ha/Biopolímero para Engenharia de Tecidos. 2012. 139 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2012.

FREIER T.; KOH S.; KAZAZIAN K.; SHOICHET S., —Controlling cell adhesion and degradation of chitosan films by N-acetylation, *Biomaterials*, 26, 5872–5878, (2005).

FRIEDMAN, C.E. et al. Composition and mechanical properties of gutta-percha endodontic points. *J. Dent Res*, v. 54, n. 5, p.921-925, 1975.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. Tratado de Histologia em Cores. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 456 p.

GIL, L. M. et al. The cell-extracellular matrix-biomaterial interface and the biocompatibility of titanium implants. *Innov. Implant J*, v. 4, n. 3, p.58-64, 2009.

GOMES, B. P. F. A. et al. Microbial Susceptibility To Calcium Hydroxide Pastes and Their Vehicles. *J. Endod*, v. 28, p.758-761, 2002.

GOODMAN, A.; SCHILDER, H.; ALDRICH, E. The thermomechanical properties of gutta-percha: II. The history and molecular chemistry of gutta-percha. *Oral Surg.*, v.37, n.6, p.954-961, 1974.

GURGEL FILHO, E. D. et al. Chemical and X-ray analyses of five brands of dental gutta-percha cone. *International Endodontic Journal*, São Paulo, v. 36, n. 4, p.302-307, 2003.

GURGEL FILHO, E.D. Estudo das propriedades químicas de cinco marcas comerciais de cones de guta-percha e de suas qualidades seladoras. 2002. 154 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência da Odontologia, Departamento de Endodontia, Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Piracicaba, 2002.

HOLLAND, R. et al. Calcium salts deposition in rat connective tissue after the implantation of calcium hydroxide-containing sealers. *J Endod*, v. 28, n. 3, p.173-176, 2002.

HOLLINGER, J.; BUCK, D.; BRUDER, S. Biology of Bone Healing: Its Impact on Clinical Therapy. In: LYNCH, S.; GENCO, R.; MARX, R. *Tissue Engineering*. Chicago: Quintessence Publishing, 1999.

JOHNSON, B. R. Consideration in the Selection of a root-end filling material. *Oral Sing Oral Med Oral Pathol Oral Endod*, v. 87, n. 4, p.398-404, 1999.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 488 p.

KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. *Histologia e Embriologia Oral*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

KATTI, K. S. Biomaterials in total joint replacement. *Colloids Surf*, v. 39, n. 3, p.133-142, 2004.

KAWACHI, E. Y. et al. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. *Quim. Nova*, v. 23, n. 4, p.518-522, 2000.

KOKKAS, A. B. et al. The influence of the smear layer on dentinal tubule penetration depth by three different root canal sealers: an in vitro study. *J Endod*, v. 30, n. 2, p.100-102, 2004.

KOKUBO, T. Apatite formation on surfaces of ceramics, metals and polymers in body environment. *Acta Mater.*, v. 46, n. 7, p. 2519-2527, 1998.

KOKUBO, T. et al. Bioactive metals: preparation and properties. *Journal Of Materials Science: Materials In Medicine*, v. 15, n. 2, p.99-107, 2004.

LEE, KWANG-WON et al. Adhesion of Endodontic Sealers to Dentin and Gutta-Percha. *Journal Of Endodontics*, v. 28, n. 10, p.684-688, 2002.

LEGEROS, R. Z. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. *Clinical Orthopaedics And Related Research*, v. 395, p.81-98, 2002.

LEONARDO, M. R. et al. Root canal adhesive filling in dogs' teeth with or without coronal restoration: a histopathological evaluation. *J Endod*, v. 33, n. 11, p.1299-1303, 2007.

LEONARDO, M. R.; LEAL, M. J. Materiais obturadores de canais radiculares. In: LEONARDO, M. R. *Endodontia: tratamento de canais radiculares: princípios técnicos e biológicos*. São Paulo: Artes Médicas, 2005. p. 1062-1145.

LEONARDO, M. R.; LEAL, M. J. *Endodontia: Tratamento de Canais Radiculares*. 3. ed. São Paulo: Panamericana, 1998. 902 p.

LIU, Y. et al. Influence of calcium phosphate crystal assemblies on the proliferation and osteogenic gene expression of rat bone marrow stromal cells. *Biomaterials*, v. 28, n. 7, p.1393-1403, 2007.

LOHBAUER, U et al. Calcium release and pH-characteristics of calcium hydroxide plus points. *IntEndod J*, v. 38, n. 10, p.683-689, 2005.

LOPES, P. H.; SIQUEIRA JUNIOR, J. F. *Endodontia: Biologia e Técnica*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 964 p.

LU, X.; LENG, Y. Theoretical analysis of calcium phosphate precipitation in simulated body fluid. *Biomaterials*, v. 26, n. 10, p.1097-1108, 2005.

MAIA, A.C.D.M. Avaliação da adaptação apical dos cones acessórios, de guta-percha e resilon, antes e após a remoção da SMEAR LAYER. 2006. 143 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Departamento de Clínica Odontológica, Universidade Potiguar, Natal, 2006.

MAIA, C. C. R. et al. Atividade Antimicrobiana de um Cimento Endodôntico à Base de Poliuretano Frente a *Enterococcus Fecales*. *Revista de Investigação Biomédica do Uiracema*, n. 2, p.19-26, 2010.

MARCIANO, J.; MICHAILESCO, P.; ABADIE, M. J. Stereochemical structure characterization of dental gutta-percha. *JournalOfEndodontic*, v. 19, n. 1, p.31-34, 1993.

MARCUCCI, M.; AVOLIO, G.; DEBONI, M. C. Z. Materiais de obturação retrógrada, revisão de literatura. *Rpg-ver PosGrad*, v. 7, n. 4, p.363-368, 2000.

MARQUES, P.A.D.A.P. Reações de superfície de cerâmicos de fosfato de cálcio em plasma simulado. 2003. Tese (Doutorado). Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal.

MENAKER, L. D. M. D. *Cáries Dentárias Bases Biológicas*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984. 461 p.

NASSRI, R. G.; LIA, R. C. C.; BOMBANA, A. C. Analysis of the tissue answer regarding two root canal searers. *J. ApplSci*, v. 11, n. 1, p.9-14, 2003.

OLSZTA, M. J. et al. Bone structure and formation: A new perspective. *Materials Science and Engineering: R: Reports*.v.58, p.77-116, 2007.

ORÉFICE, R.L; PEREIRA, M.M; MANSUR, H.S. *Biomateriais: Fundamentos e Aplicações*. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2006. 538 p.

PARK, J. *Bioceramics. Properties, Characterizations and Applications*. Iowa City, USA: Springer, 2008. 376 p.

PARK, J. B.; LAKES, R. S. *Biomaterials an introduction*. 2nd ed. New York: Plenum Press, 1992. 394 p.

PASTERIS, J.D., WOPENKA, B., FREEMAN, J.J. *et al.* 2004, "Lack of OH innanocrystalline apatite as a function of degree of atomic order: implications for bone and biomaterials", *Biomaterials*, v. 25, n. 2, pp. 229-238.

PETERS, A. O; SCHONENBERGER, K; LAIB, A. Effects of four Ni-Ti preparation techniques on root canal geometry assessed by micro computed tomography. *Int. Endod. J.*, v. 34, n. 3, p.221-230, 2001.

PINTO, L. E. S. C. Tratamento químico da superfície de Implantes de Titânio. 2006. 166 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência Dos Materiais, Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, 2006.

RABELLO, S. M. *Estrutura Supermolecular de Polímeros*. 1989. Apostila - Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, 1989.

RATNER, B. D et al. *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*. New York: Academic Press, 1996. 484 p.

RATNER, B. D. A History of Biomaterials. In: RATNER, B. D. et al. *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*. 2. ed. Amsterdam: Elsevier, 2004. p. 10.

RESENDE, Cristiane Xavier. Estudo Teórico - Experimental de Duas Soluções Para Testes de Bioatividade E Revestimento de Metais. 2007. 97 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências em Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

REZENDE, M. C. R. A. et al. Tratamento de superfície de implantes Dentários: sbf. *Revista Odontológica de Araçatuba*, v.32, n.2, p. 38-43, Julho/Dezembro, 2011

RING, M. E. A thousand yearsof dental implants: A definitivehistory – Part1. *CompendContinEducDent*, v. 19, p.1060-1069, 1995.

RODRIGUES, M. E. S. Análise do Risco de Fratura Óssea por Ultrassonometria e Ensaio Mecânico de Compressão. 2003. 144 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Bioengenharia, Escola de Engenharia de São Carlos - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

SACRAMENTO, P. A. et al. Propriedades antibacteriana de materiais Forradores- Revisão da Literatura. Revista de Odontologia da Unesp, v. 37, n. 1, p.59-64, 2008.

SADER, M. S. Fosfato Tricálcico Substituído por Magnésio e Compósito Magnésio – Carbonato Apatita - Colágeno Aniônico como Potencial Substituto Ósseo. 2010. 73 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

SALEH, J. et al. —Obtenção e avaliação de hidroxiapatita in vivoll. *IN: Anais do Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais*, 16. Porto Alegre, 2004.

SANTOS JUNIOR, E. Anodização de titânio comercialmente puro para aplicações biomédicas. 2005. 118f. Disseeertação (Mestrado)Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Rio de Janeiro (2005).118p

SCHEIDELER, L. et al. Photocoupling of fibronectin to titanium surfaces influences keratinocyte adhesion, pellicle formation and thrombogenicity. *Dent Mater*, v. 23, n. 4, p.469-378, 2007.

SCHILDER, H.D.D.S.; GOODMAN, A.; ALDRICH, W. Determination of phase transition temperatures for gutta-percha Part III. *Oral Surg*, v. 38, n. 1, p.109-114, 1974.

SCHILDER, H.D.D.S.; GOODMAN, A.; ALDRICH, W.The thermomechanical properties of gutta-percha Part V. Volume changes in bulk gutta-percha as a function of temperature and its relationship to molecular phase transformation. *Oral Surg. Oral Méd. Oral Pathol*, v. 59, n. 3, p.285-296, 1985.

SELLIN, N. Análise da superfície de polímeros pós-tratamento corona. 2002. 125 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas - Faculdade de Engenharia Química, Campinas, 2002.

SENA, L. *Produção e Caracterização Hidroxiapatita-Colágeno para Aplicações Biomédicas*. Tese (Doutorado em Ciências em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) - Departamento de Ciências em Engenharia Metalúrgica e de Materiais. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2004.

SEUX, D. et al. Odontoblast-likecytodifferentiationofhuman dental pulpcells in vitro in thepresenceof a calciumhydroxide-containingcement. *Arch Oral Biol*, v. 36, n. 2, p.117-128, 1991.

SIKAVITSAS, V.I.; TEMENOFF, J.S.; MIKOS, A.G. Biomaterials and Bone Mechanotransduction. *Biomaterials*, Guildford, v.22, n.19, p.2581-2593,oct. 2001.

SILVA JUNIOR, J. B. A et al. Estudo da Degradação da gutta-percha (1,4trans-Poliisopreno) in vivo utilizada em Endodontia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE

ENGENHARIA DE MATERIAIS, 17., 2006, Foz do Iguaçu. Anais 17º Congresso Brasileiro de Engenharia de Materiais. Foz do Iguaçu: 2006. p. 8513 - 8520.

SIMÕES, R.D.; SIZENFELD, V.L.; ATRA, E. Aspectos do metabolismo ósseo: osteoporose. In: Ginecologia endócrina. Rodrigues de Lima G., Baracat E.C., eds. 1ª Ed. São Paulo: Editora Atheneu; 272-82, 1995.

SIQUEIRA JUNIOR, J. F.; LOPES, H. P. Mecanismo da atividade antimicrobiana do Hidróxido de Cálcio: uma revisão crítica. *Internacional*, v. 32, p.361-369, 1999.

SOLAK, H.; OZTAN, M. D. The pH changes of four different calcium hydroxide mixtures used for intracanal medication. *J Oral Rehabil*, v. 30, n. 4, p.436-439, 2003.

SONAT, B.; DALAT, D.; GUNHAN, O. Periapical tissue reaction to root fillings with Sealapex. *Int. Endod. J, Oxford*, v. 23, n. 1, p.46-52, 1990.

SOUZA, R. A. A. Análise crítica do papel da obturação no tratamento endodôntico. *J. Brás.Endod*, v. 6, n. 23, p.29-39, 2006.

STASHENKO, P.; TELES, R.; D'SOUZA, R. Periapical inflammatory responses and their modulation. *Crit Rev Oral Biol Med*, v. 9, n. 4, p.498-521, 1998.

STRNAD, Z. et al. Effect of plasma – sprayed hidroxyapatite coating on the osteoconductivity of commercially purê titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*, v. 15, p.483-490, 2000.

SUL, Y. T.; BYON, E. S.; JEONG, Y. Biomechanical measurements of calcium incorporated oxidized implants in rabbit bone: Effect of calcium surface chemistry of a novel implant. *Clin. Implant Dent. Relat.Res*, v. 6, p.101-110, 2004.

SYKARAS, N. et al. Implant materials, designs and surface topographies: their effect on osseointegration. A literature review. *Int J Oral Maxillofac Implants*, v. 15, p.675-690, 2000.

TADDEI, P.; TINTI, A.; FINI, G.. Vibrational spectroscopy of polymeric biomaterials. *Journal Of Raman Spectroscopy*, v. 32, p.619-629, 2001.

TAGGER, M. E.; TAGGER, E. K. A. Release of calcium and hydroxyl ions from set endodontic sealers containing calcium hydroxide. *Journal Of Endodontics*, v. 14, n. 12, p.588-591, 1988.

TAY, F. R.; PASHLEY, D. H. Water treeing-a potential for degradation of dentin adhesives. *J Dent*, v. 16, p.6-12, 2003.

THOMAZINI, A. H. A. Desenvolvimento de Estruturas Porosas de Polietileno de Ultra Alto Peso Molecular (PEUAPM) Recobertas com Apatitas para Substituição

e Regeneração Óssea. 2009. 142 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Instituto de Química - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.

TORABINEJAD, M. et al. Levels of evidence for the outcome of nonsurgical endodontic treatment. *Journal Of Endodontics*, v. 31, n. 9, p.637-646, 2005.

TORTORA, G.; GRABOWSKI, S. *Princípios de Anatomia e Fisiologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogans, 2002.

VALERA, M. C. et al. Cimentos Endodônticos: análise morfológica imediata e após seis meses utilizando microscopia de força atômica. *Pesqui Odontol Brás*, v. 14, p.199-204, 2000.

VALLET-REGÍ, María; GONZÁLEZ-CALBET, José María. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. *Progress In Solid State Chemistry*, v. 32, p.1-31, 2004.

VAN NORT, R. *Introdução aos materiais dentários*. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 344 p.

VEDI, S. et al. The effects of hormone replacement therapy on cortical bone in postmenopausal women. A histomorphometric study. *Bone*, v. 33, n. 3, p.330-334, 2003.

VERCIK, L.C.; ASSIS, C.M.; FOOK, M.V.L.; SANTOS, M.L.; GUASTALDI, A.C. Recobrimento de apatitas in vitro sobre titânio- influência do tratamento térmico, eclética química, v.28, 2003.

WARNEKE, S. et al. Bacterial degradation of poly(trans-1,4- isoprene) (gutta-percha). *Microbiology*, v. 153, p.347-356, 2007.

WEATHERS JUNIOR, A. K. "Alpha" gutta-percha is it just another phase? *Dent Today*, v. 10, n. 5, p.55-56, 1991.

WEN, H. B. et al. A simple method to prepare calcium phosphate coatings on Ti6Al4V. *Journal Of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 8, n. 12, p.765-770, 1997.

WENNERBERG, A.; ALBREKTSSON, T.; LINDHE, J. Surface topography of titanium implants. In: LINDHE, Jan; KARRING, Thorkild; LANG, Niklaus P. *Clinical Periodontology and Implant dentistry*. 4. ed.: Blackwell Publishing, 2003. p. 821-825.

YOUNG, B.; HEATH, J. W. *Wheater Histologia Funcional - Texto e atlas em cores*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 415 p.