

IMPLANTES SUBCUTÂNEOS DE TUBOS DE DENTINA PREENCHIDOS COM MATERIAIS À BASE DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO ESTUDO HISTOLÓGICO EM RATOS*

Elcio MARCANTONIO JUNIOR**
Raphael Carlos Comelli LIA***
Elcio MARCANTONIO**
Carlos BENATTI NETO***
Mário Francisco Real GABRIELLI**

RESUMO: Foi avaliada a reação do tecido conjuntivo subcutâneo do rato a implantes de materiais sob a forma de cimentos à base de hidróxido de cálcio (Procal e Life) comparando-os ao grupo controle hidróxido de cálcio + macrogol 400. Foram utilizados 45 ratos (Rattus norvegicus, albinus, Holtzmann) os quais receberam os implantes em tubos de dentina e foram sacrificados em grupos aos 2, 3, 7, 21 e 60 dias de pós-operatório. Os resultados permitiram concluir que: 1 - Todos os materiais testados comportaram-se como irritantes do tecido conjuntivo subcutâneo do rato, permitindo no entanto evolução por colagenização da cápsula, nos períodos finais de observação e decréscimo do infiltrado inflamatório. Em ordem crescente de irritabilidade foi encontrada a seguinte seqüência: 1) Macrogol 400 + hidróxido de cálcio; 2) Procal; 3) Life; 2 - Estruturas como mineralizações, tendendo a formação de barreira junto a abertura tubular, foram notadas de forma ampla e completa no Grupo I (Macrogol 400 + hidróxido de cálcio) e esparsas no Grupo II (Procal), aos 21 dias, principalmente; 3 - Ocorrência de atividade macrofágica foi constante nos Grupos Life e Procal, com ênfase a este último por mononucleados.

UNITERMOS: Compatibilidade biológica; hidróxido de cálcio; tecido subcutâneo de rato.

INTRODUÇÃO

A procura de um material capaz de promover a formação de barreira mineralizada e conseqüentemente, proteção à polpa dentária, levou os pesquisadores a concentrar seus estudos no hidróxido de cálcio, substância capaz de estimular respostas que favorecem a vitalidade pulpar.

Foi, provavelmente, através de HERMANN⁴, que se deu a introdução do hidróxido de cálcio em forma de pasta. Esse autor utilizou o material, com a denominação de Calxyl, para capeamento de polpas expostas.

A literatura mostra-nos quantidade considerável de trabalhos de pesquisa com materiais à base de hidróxido de cálcio, com

a finalidade de verificar a capacidade deste em promover o reparo e estimular a mineralização, através da indução do tecido conjuntivo^{1, 13, 19, 22}.

As experiências de HOLLAND *et al*⁶ a partir de 1968, marcam, no Brasil, o início de pesquisas com hidróxido de cálcio na preservação da vitalidade do coto pulpar, por permitir e estimular a neoformação cementária.

Os resultados obtidos em cães, demonstram que o hidróxido de cálcio estimula e antecipa a tão desejada deposição cementóide ao nível do canal cementário, reduzindo e chegando mesmo a obliterar o forame apical^{5, 6, 7, 11}.

* Trabalho desenvolvido com auxílio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo — FAPESP — Proc. 80/1275.8.

** Departamento de Diagnóstico e Cirurgia — Faculdade de Odontologia — UNESP — 14800 — Araraquara — SP.

*** Departamento de Fisiologia e Patologia - Faculdade de Odontologia — UNESP — 14800 — Araraquara — SP.

Tem sido constantemente descrita a formação de barreira mineralizada, conseqüente à utilização de hidróxido de cálcio puro, ou materiais à base dessa mesma substância, para o capeamento de polpas expostas^{3, 11, 15, 21}, os quais parecem apresentar compatibilidade biológica quando implantados a nível de tecido subcutâneo do rato^{9, 18, 22}.

O incremento das pesquisas com o hidróxido de cálcio, justifica-se pelos inúmeros produtos que são lançados no mercado, aos quais os fabricantes atribuem propriedades físico-químicas ou biológicas melhoradas.

No entanto, o acondicionamento de outras substâncias ao hidróxido de cálcio puro, numa tentativa de aprimorar suas propriedades físico-químicas, tende a comprometer as boas qualidades biológicas deste material^{2, 9, 19, 20, 23}.

Assim é, que resolvemos avaliar a resposta tecidual, do conjuntivo subcutâneo de rato, a alguns produtos comerciais (Life e Procal), comparados ao Hidróxido de Cálcio P. A. associado ao Macrogol 400.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram usados no presente estudo 45 ratos (*Rattus norvegicus, albinus*, Holtzmann), machos, pesando em média 180 gramas e distribuídos em 3 grupos de 15 animais (Tabela 1), os quais foram mantidos antes e durante a pesquisa com ração sólida comercial * balanceada e água à vontade.

Para implantação dos corpos de prova, os animais foram submetidos à anestesia geral por inalação de éter sulfúrico. Após o posicionamento em mesa cirúrgica, foi realizada a tricotomia nas regiões dorsal escapular

(direita e esquerda) e dorsal pélvica, sendo realizada a antisepsia com solução de merthiolate.

Cada área eleita recebeu uma incisão de aproximadamente 7mm e o tecido subcutâneo divulsionado por tesoura romba.

Os materiais foram implantados no tecido subcutâneo do rato, em tubos de dentina previamente preparados e esterilizados¹⁷, a uma distância de 2cm da incisão e com o cuidado de não serem posicionados perpendicularmente à incisão.

Procedeu-se à aproximação e sutura das bordas, com fio de algodão e os animais foram mantidos em gaiolas individuais.

Todo instrumental clínico foi esterilizado em estufa a 160°C durante uma hora.

Decorridos 2, 3, 7, 21 e 60 dias, os animais foram novamente anestesiados. As áreas de implantes, localizadas por palpação, tricotomizadas e removidas com margem de segurança, após o que o animal era sacrificado. As peças cirúrgicas foram fixadas em formalina a 10%, durante 48 horas, desmineralizadas com ácido fórmico a 50% e citrato de sódio a 20% em partes iguais¹⁴ e neutralizadas em solução de sulfato de sódio a 5%. Após receberem tratamento histológico de rotina para inclusão em parafina, os blocos foram cortados seriadamente, com 6 micrômetros de espessura e o material decorrente corado pelos métodos da Hematoxilina — Eosina e Tricrômico de Gomori, para análise em microscopia óptica.

RESULTADOS

Considerando no quadro reacional dentro dos períodos experimentais do trabalho a evolução tecidual para encapsulamento fi-

TABELA 1 — Distribuição dos animais de acordo com os grupos experimentais.

Grupos	N.º de Animais	Período Pós-operatório (Dias)	Material Implantado
I (contr)	15	2, 3, 7, 21 e 60	Hidróxido de Cálcio (3 gr) + Macrogol 400 (1,5ml)
II	15	2, 3, 7, 21 e 60	Procal*
III	15	2, 3, 7, 21 e 60	Life**

* 3M Company (USA)

** Sybron/Kerr (USA)

* Productor Anderson Clayton S/A Ind. e Comércio

broso denso, de pequena espessura, o não significativo infiltrado inflamatório e a ausência de quadros degenerativos, visualizados fora da área principal de análise histológica, isto é, sobre as laterais do tubo de dentina, elegemos estas superfícies como controle, padrão reacional de adaptação à agressão. Essa evolução reacional é demonstrada pelas Figs. 1, 2, 3, 4 e 5.

PERÍODO DE 2 E 3 DIAS (Figs. 1,6,12,18)

Em todos os grupos, observa-se: compactação de fibras, por deslocamento, que caracteriza uma pseudocápsula ao redor dos tubos que têm superfícies íntegras; infiltrado inflamatório com predomínio neutrofilico, de intensidade moderada para o Grupo I, moderada a intensa para o II e intensa para o III, decrescente à distância da área do implante; atividade macrofágica efetuada através de células mononucleadas e gigantócitos, em quantidade discreta/não significativa; necrose de contato adjacente ao material, em grau moderado para o Grupo I, moderado/intenso para o Grupo II e intenso para o III.

PERÍODO DE 7 DIAS (Figs. 2, 13, 19)

Para os três grupos, observa-se: cápsula, junto às paredes íntegras do tubo, em colagenização; cápsula ampla, com grande população celular e vascular; evolução por colagenização, desta em grau moderado para o Grupo I e discreto para o II e III; infiltrado inflamatório, de predomínio linfoplasmocitário, moderado/discreto para o Grupo I e moderado/intenso para os demais; atividade macrofágica com prevalência de mononucleados em grau discreto para o Grupo I e moderado para os Grupos II e III; resíduos necróticos junto à luz do tubo em grau discreto para o Grupo I, discreto/moderado para o II e moderado para o III.

Áreas basófilas, que sugerem mineralizações, são vistas junto à abertura tubular, especialmente no Grupo I, onde tendem à formação de barreira.

PERÍODO DE 21 DIAS (Figs. 3, 7, 8, 14, 15, 20, 21).

Em todos os grupos observa-se: cápsula junto à superfície íntegra do tubo, fibrosa, densa e fina; cápsula, junto à abertura tubular com prevalência de fibras sobre a moderada/discreta população celular e discreta quantidade de pequenos vasos, para o Grupo I, quantidade de fibras e população celular e de pequenos vasos moderadas para o Grupo II, moderada/discreta quantidade de fibras e moderada/intensa população celular e pequenos vasos para o Grupo III; infiltrado inflamatório, linfoplasmocitário, discreto/moderado para o Grupo I, moderado para os Grupos II e III; atividade macrofágica, através de mononucleados em predomínio e gigantócitos, discreta/não significativa para o Grupo I, moderada/intensa para o Grupo II e moderada para o III; nódulos reacionais próximos à superfície principal de análise, com formações que lembram mineralizações distróficas sofrendo atividade clástica em alguns casos do Grupo II e demais.

Áreas basófilas como mineralizações acompanhando a disposição de fibras da cápsula, como tentativa de formação de barreira e algumas células clásticas multinucleadas justapostas são notadas no Grupo I e em pequena quantidade em alguns cortes dos grupos II e raramente no III.

PERÍODO DE 60 DIAS (Figs. 4, 5, 9, 10, 11, 16, 17, 22, 23)

Para os três grupos observa-se: cápsula adjacente às laterais do tubo, como evolução do período anterior, fibrosa, densa e fina; cápsula com características semelhantes às do período anterior, para o Grupo I, quantidade moderada/intensa de fibras e discreta/moderada população celular e de pequenos vasos para os Grupos II e III; infiltrado inflamatório linfoplasmocitário discreto para o Grupo I e discreto não significativo para os II e III; atividade macrofágica sobre partículas que lembram material não significativo para o Grupo I, principalmente por mononucleados em grau intenso, sobretudo junto à abertura tubular para o Grupo II, efetuada, em grau moderado, principalmente por gigantócitos para o Grupo III; nódulos reacionais com características semelhantes àquelas notadas no período anterior, per-

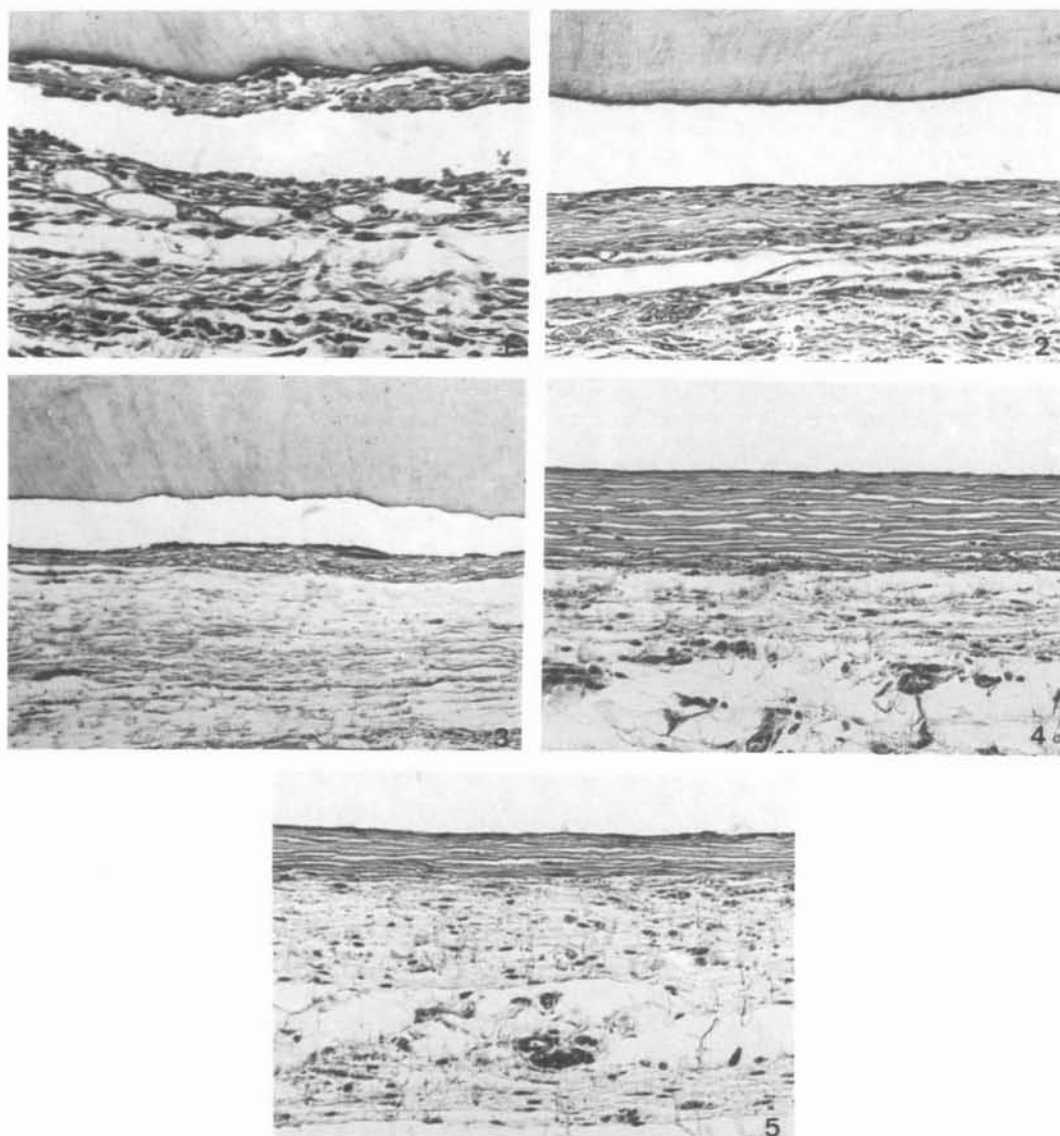


FIG. 1 — Controle implante - 3 dias - Compacção de fibras como pseudo cápsula. Parede dentinária íntegra com irregularidades de preparo. Tricrômico de Gomori - 400 X.

FIG. 2 — Controle implante - 7 dias - Cápsula fibrosa densa em evolução por colagenização. Parede íntegra e regular do tubo. Tricrômico de Gomori - 160 X.

FIG. 3 — Controle implante - 21 dias - Cápsula fibrosa densa e fina. Parede dentinária íntegra apresentando discreta irregularidade de preparo. Tricrômico de Gomori - 100 X.

FIGS. 4 e 5 — Controle implante - 60 dias - Cápsula reacional densa e fina mostrando regularidade em suas fibras, próxima as laterais do tubo. Tricrômico de Gomori - 100 X.

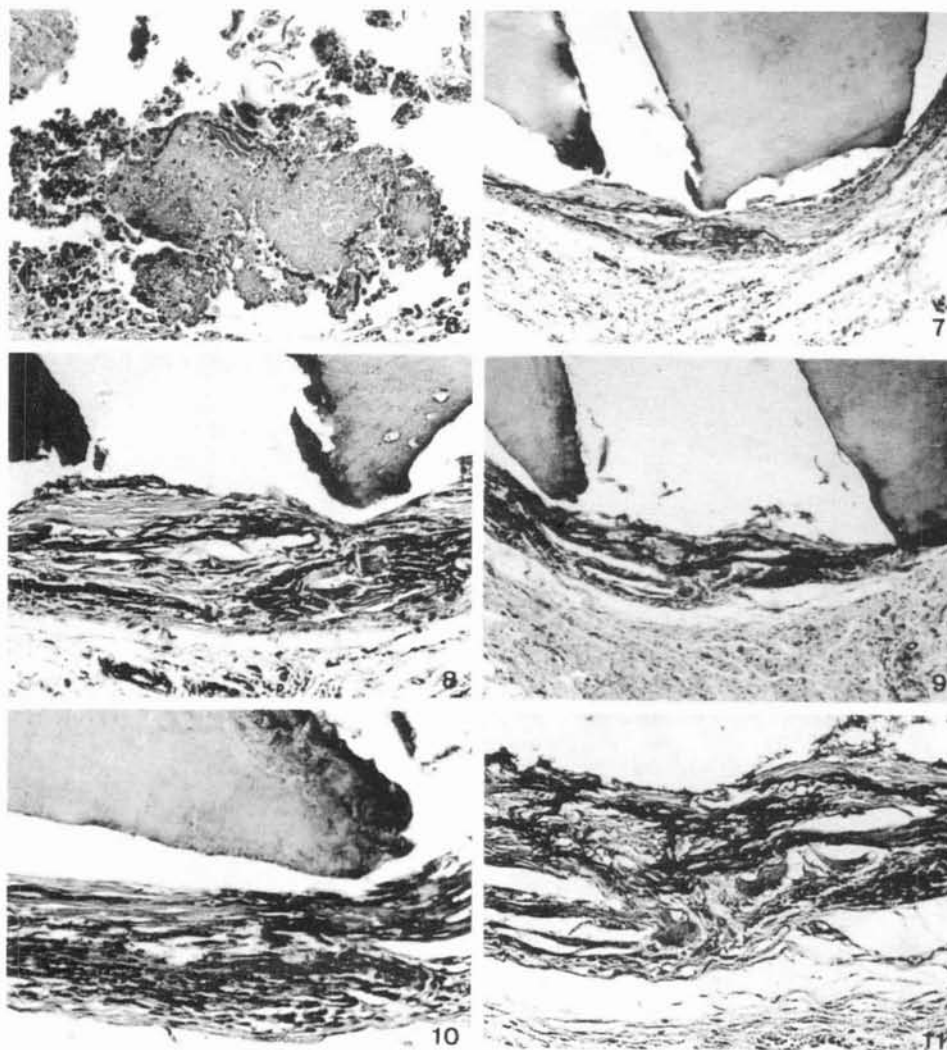


FIG. 6 — Hidróxido de cálcio + Polietileno glicol - 2 e 3 dias - Resíduos necróticos mesclados ao material visualizados na abertura tubular. Infiltrado inflamatório tipo misto. Divulsão e dilaceração tecidual. H.E. 160 X.

FIG. 7 — Hidróxido de Cálcio + Polietileno glicol - 21 dias - Cápsula reacional (grau II/I) junto a abertura tubular, caracterizando-se como densa e fina. Infiltrado inflamatório tipo misto. HE 100 X.

FIG. 8 — Detalhe do quadro anterior. Áreas basófilas como mineralizações acompanhando a disposição das fibras, visualizadas na área principal de estudo. 160 X.

FIG. 9 — Hidróxido de cálcio + Polietileno glicol - 60 dias - Cápsula reacional semelhante à do período anterior. Superfície tubular íntegra. HE 100 X.

FIGS. 10 e 11 — Detalhes do quadro anterior. Áreas basófilas, como mineralizações posicionando-se em continuidade aos feixes de fibras. Células clásticas justapostas a essas barreiras. (fig. 11). HE 160 X.

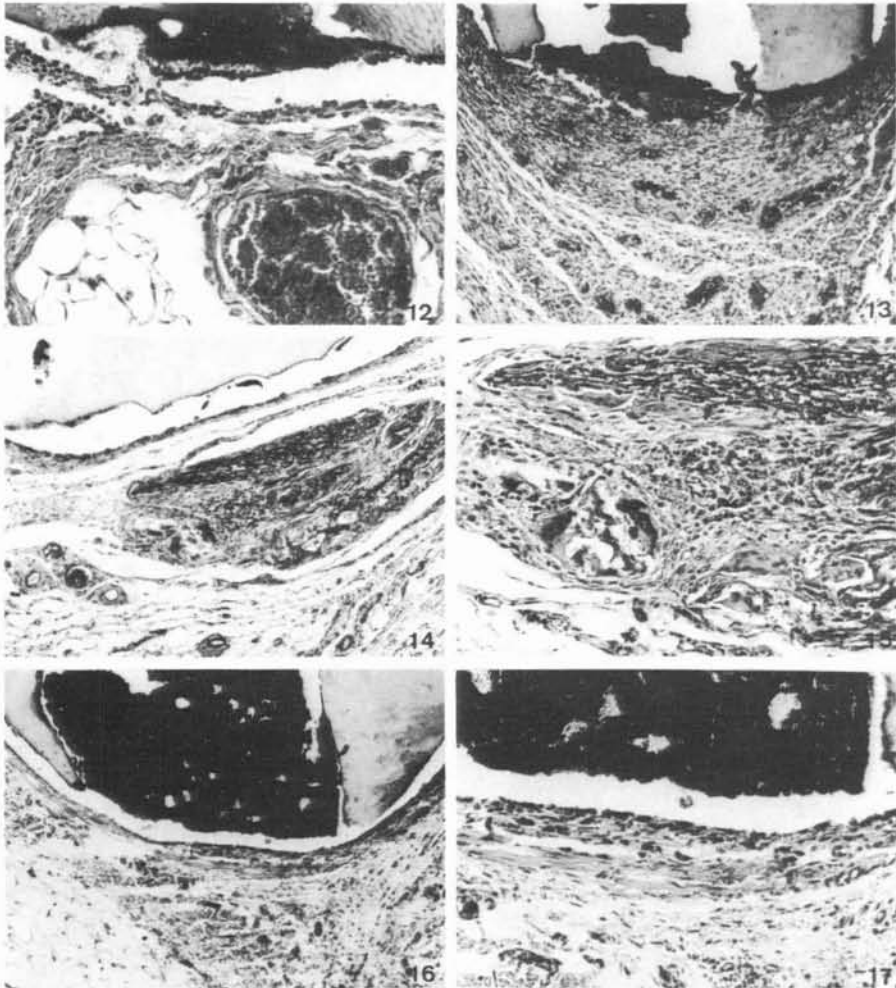


FIG. 12 — Procal - 2 e 3 dias - Vasos ingurgitados exibindo marginação e diapedese leucocitária. Resíduos necróticos em superfície contactando com material que aparece como resíduos de coloração negra. HE 160 X.

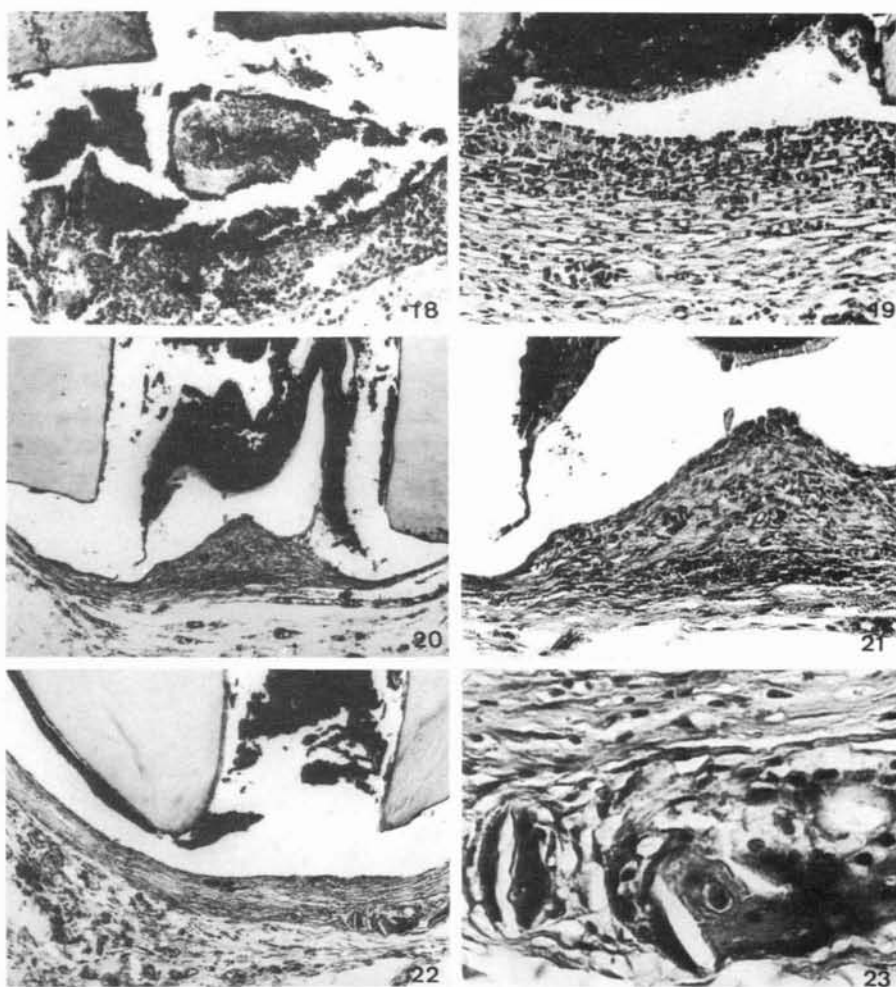
FIG. 13 — Procal - 7 dias - Ampla faixa de tecido de granulação (grau III) ricamente vascularizada e celularizada, visualizada na área principal de análise. HE 100 X.

FIG. 14 — Procal - 21 dias - Cápsula reacional (grau II) em evolução por colagenização. Nódulo reacional visto na superfície capsular próximo à área principal de análise. HE 100 X.

FIG. 15 — Detalhe do quadro anterior. Magnitude do nódulo reacional, revelando atividade clástica sobre áreas que lembram mineralizações distróficas. 160 X.

FIG. 16 — Procal - 60 dias - Cápsula reacional (grau II/I). Resíduos necróticos mesclados ao material de coloração negra, vistos junto a abertura tubular. Tricrômico de Gomori. 100 X.

FIG. 17 — Detalhe do quadro anterior. Atividade macrofágica sobre particulas negras, em meio à cápsula, exercida por mononucleados em grau intenso. Discreto/não significativo infiltrado inflamatório com prevalência de linfócitos e plasmócitos. 160 X.



- FIG. 18 — Life - 2 dias - Infiltrado inflamatório intenso com prevalência de polimorfonucleares neutrófilos. Resíduos necróticos mesclados ao material que aparecem em negro. HE 160 X.
- FIG. 19 — Life - 7 dias - Infiltrado inflamatório com predominância de linfócitos e plasmócitos. Necrose de contacto junto ao material da luz do tubo. 160 X.
- FIG. 20 — Life - 21 dias - Cápsula reacional ampla (grau III/II) na área principal de análise, fibrosa densa e fina (grau I) nas laterais do tubo. Resíduos negros como material na luz do tubo de dentina. Tricrômico de Gomori, 100 X.
- FIG. 21 — Detalhe do quadro anterior. Magnitude da cápsula reacional apresentando-se com moderada/intensa população celular e de pequenos vasos para uma discreta/moderada de fibras. Atividade macrofágica por mononucleados sobre partículas que lembram material. 160 X.
- FIG. 22 — Life - 60 dias — Cápsula reacional (grau II) com discreta população celular e de pequenos vasos para moderada/intensa quantidade de fibras. Tricrômico - de Gomori, 100 X.
- FIG. 23 — Detalhe do quadro anterior. Em meio a cápsula, gigantócitos em atividade macrofágica sobre partículas que lembram material. 400 X.

sistem em poucos casos do Grupo II e como evento raro nos demais.

Para o Grupo I, áreas basófilas como mineralizações, são visualizadas na cápsula, junto à abertura tubular, posicionando-se como barreira onde células clásticas justapõem-se com frequência.

DISCUSSÃO

A resposta tecidual frente às substâncias testadas, permitiu-nos, em comparação ao Grupo I (controle), de agressividade menor, estabelecer em ordem crescente de irritabilidade o Grupo II (Procal) e o Grupo III (Life).

O infiltrado inflamatório agudo presente, para os 3 grupos, no período de 2 dias que parece estar ao menos em parte, relacionado ao traumatismo cirúrgico⁹, tem no tempo de 3 dias a confirmação do potencial de agressividade dos materiais testados.

A necrose presente em maior quantidade nos Grupos II (Procal e III (Life)), principalmente neste e moderado no controle, deveu-se fundamentalmente à ação de contacto, fato comum em implantes de substâncias no conjuntivo subcutâneo.

O início de proliferação fibroblástica e neoformação capilar observou-se aos 3 dias, nos Grupos controle e III (Life), principalmente no primeiro, sugerindo rápida evolução, acompanhando outras pesquisas^{1, 7, 9}.

Aos sete dias, cápsula ampla, indicada como grau III, esteve presente nos Grupos experimentais (Procal e Life), e grau II no controle.

A cápsula de grau III, é acompanhada normalmente de intensa população celular e de pequenos vasos, como tecido de granulação. Quando da ocorrência de evolução satisfatória, exibe-se menos ampla, e em colagenização dentro dos parâmetros finais do quadro reacional. Desse modo, a cápsula referente ao grupo controle, com grau II de espessura, apresenta moderado processo de colagenização, na seqüência do quadro crônico.

O infiltrado inflamatório neste período, com prevalência marcante de linfócitos e plasmócitos, acompanhou em intensidade a reação tecidual nos diversos grupos, com

graus moderado/intenso para Procal e Life e moderado para o controle.

Com a evolução por colagenização da cápsula, neste período de sete dias no grupo controle, relativamente avançada, notou-se também presença de basofilia na área principal de análise, sugerindo mineralizações. Tal situação, demonstra a não interferência do polietileno glicol no potencial indutor de mineralização do hidróxido de cálcio, fatos também observados em diversos trabalhos similares^{1, 10, 17, 19}. Por outro lado, nos dois grupos experimentais (Procal e Life), não vimos, a esse tempo, aspectos sugestivos de mineralizações provavelmente devido à etapa da evolução reacional e ou interferências de seus componentes.

No período de 21 dias, a evolução da cápsula por colagenização foi evidente no grupo referente ao Procal e sensivelmente acentuada no grupo controle como seqüência lógica do período anterior. No Grupo Life, apresentou-se moderada/discreta, mostrando maior agressividade deste material.

A presença de áreas basófilas, no grupo controle, como mineralizações, foi marcante em todos os preparados, com tendência à formação de barreira, corroborando o relatado no período de 7 dias, tendência também encontrada por outros autores^{1, 7, 9}. Estas áreas foram visualizadas no grupo Procal, porém, em menor intensidade e regularidade, mostrando, todavia, algum potencial de mineralização, não anulado pelos demais componentes do material.

O infiltrado inflamatório do tipo linfoplasmocitário, apresentou-se em grau moderado nos grupos experimentais, sugestivo da evolução reacional. Fato digno de se destacar foi a exacerbação aguda no grupo controle, chegando o infiltrado neutrofílico a grau discreto/moderado, ocorrência essa de difícil explicação, excluindo-se a possibilidade de contaminação junto às laterais do tubo e pela constância em todos os preparados.

A atividade macrofágica manteve-se persistente nos grupos Life e Procal, em graus moderados, enquanto que, no controle, foi raramente encontrada^{1, 9}.

As partículas fagocitadas vistas nos grupos experimentais apresentaram-se como corpúsculos escuros, mostrando homogeneidade de cada mistura, ocorrência nem sem-

pre comum, onde alguns cimentos e pastas permitem atividade macrofágica seletiva, ainda que ao acaso^{8,12,16}.

No período final de observação, a cápsula apresentou-se, em todos os grupos, em franca evolução por colagenização, onde os referentes ao Procal e controle de material atingiram grau II/1, como sendo densa e fina, aproximando-se sensivelmente ao do controle (grau I). O Grupo Life ainda que com a mesma tendência mostrou cápsula grau II, menos densa e fina.

O aspecto denso da cápsula foi bem caracterizado pelo grau moderado/intenso atingindo pela colagenização progressiva vista em disposição regular nos grupos experimentais. No controle, esta densidade exibiu-se igual e em perfeita continuidade com a cápsula da periferia do tubo (controle de implante).

O infiltrado inflamatório praticamente não significativo para os dois materiais (Grupo II e III), acompanhou satisfatoriamente a evolução reacional, condizente com a densidade da cápsula. Salienta-se que esta relação não é obrigatória, porém, somam-se para a consideração de boa aceitação do corpo de prova implantado.

Quanto ao grupo controle, o infiltrado inflamatório de tipo misto apresentou-se em grau discreto, fugindo neste setor da condição especial de boa compatibilidade. Não encontramos ainda uma explicação plausível para tal ocorrência, salientando-se mais uma vez a constância do achado e o descarte de contaminação.

Áreas basófilas, sugerindo mineralizações foram freqüentes no grupo controle, como formação de barreira, disposição fibrosa da cápsula, fatos considerados ideais para materiais indutores de mineralização.

O Grupo III (Life) continuou não exibindo áreas que sugerissem mineralizações, provavelmente pela interferência de componentes da mistura, enquanto que o II (Procal) não mostrou a evolução esperada, onde

foram vistas apenas de maneira discreta e esparsas.

A atividade macrofágica decresceu lentamente no grupo III (Life), de forma natural, enquanto que, no II (Procal), chegou a grau intenso, acentuando-se em relação aos períodos anteriores.

Há possibilidade de dificuldades de digestão das partículas neste caso, porém, continuaram a apresentar-se finas e homogêneas e ainda as células macrofágicas não exibiam sinais degenerativos significantes. Esta ação no grupo controle, a exemplo do período anterior, não foi considerada, pela raridade do encontro.

Com base neste trabalho, a continuidade de pesquisa sobre compatibilidade biológica, em nível I, assim como nos níveis II e III, é imperiosa no sentido de se poder esclarecer melhor alguns pontos, ainda obscuros, e avaliar sempre o potencial de agressividade de materiais odontológicos lançados no mercado.

CONCLUSÕES

Com base em nossos resultados e tendo em vista a metodologia empregada, julgamos poder concluir:

1 — Todos os materiais testados comportaram-se como irritantes do tecido conjuntivo subcutâneo do rato em ordem crescente: Macrogol 400 + Hidróxido de Cálcio, Procal e Life. Entretanto, permitiram uma evolução por colagenização da cápsula, nos períodos finais de observação e decréscimo do infiltrado inflamatório.

2 — Estruturas como mineralizações, tendendo a formação de barreira junto a abertura tubular, foram notadas de forma ampla e completa no Grupo I (Macrogol 400 + Hidróxido de Cálcio) e esparsas no Grupo II (Procal), aos 21 dias, principalmente.

3 — Foi constante a atividade macrofágica nos grupos III (Life) e II (Procal), com ênfase a este último por mononucleados.

MARCANTONIO JÚNIOR, E. *et alii* — Subcutaneous implantation of dentin tubes filled up with calcium hydroxide material. Histological study in rats. *Rev. Odont. UNESP, São Paulo*, 13(1/2):39-49, 1984.

ABSTRACT: The authors evaluated the reaction of subcutaneous tissue of rats, to implantation of calcium hydroxide cements (Procal and Life), in comparison with control groups of calcium hydroxide plus macrogol 400. Forty five animals (*Rattus norvegicus*, *albinus*, *Holtzman*) were used and the respective groups were sacrificed at 2, 3, 7, 21 and 60 days after surgery. The results within the limits of this methodology, permitted to conclude that: 1 - All the studied materials were irritant to connective tissue, although permitted the formation of a fibrous tissue capsule, in the final periods, and decrease of the inflammatory infiltrate. The combination of macrogol 400 plus calcium hydroxide was the least irritant material, followed by Procal and, then, Life; 2- Mineralization was observed, tending to obliterate the ends of the dentin tubes, for the control group. This mineralization was irregular and incomplete after 21 days, specially for Procal; 3 - Macrophagic activity was frequently observed for Life and Procal groups, specially the latter, by monucleated cells.

KEY-WORDS: Histocompatibility; calcium hydroxide; rat subcutaneous tissue.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CESAR, C. A. S. — *Estudo comparativo da resposta do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante do tubo de dentina, obturados parcialmente e completados com diferentes misturas de hidróxido de cálcio*. Araraquara, Faculdade de Odontologia, Unesp, 1980. (Tese - Mestrado)
2. CRIVELARO, S. M. G.; TOLEDO, O. A. & LIA, R. C. C. — Rat connective tissue response to implants of calcium hydroxide materials (Hidropac and Pulpdent). *Rev. Fac. Odont., Araraquara*, 1(1):19-28, jan./jun., 1978.
3. GLASS, R. L. & ZANDER, H. A. — Pulp healing. *J. dent. Res.*, 28:97-107, 1949.
4. HERMANN, B. W. — Calcium hydroxyd als mittel zum behandeln und Füllen von wurzelkanälen. *Disj.*, Würzburg. *Apud*: CASTANGNOLA, L. — *La conservación de la vitalidade de la pulpa en la operatoria dental*. Buenos Aires, Mundi, 1956 p. 48.
5. HOLLAND, R. — *Processo de reparo do coto pulpar e dos tecidos periapicais após biopulpectomia e obturação de canal com hidróxido de cálcio ou óxido de zinco e eugenol. Estudo histológico em dentes de cães*. Araraquara, Faculdade de Odontologia de Araraquara, 1975. (Tese - Livre Docência)
6. HOLLAND, R.; SOUZA, V. & MILANEZI, L. A. — Estudo morfológico da reação do coto pulpar e tecidos periapicais frente a alguns materiais empregados na obturação dos canais radiculares. *Ciênc. & Cult.*, 20:355, 1968.
7. LEONARDO, M. R. & LIA, R. C. C. — Compatibilidade biológica de composto à base de hidróxido de cálcio. *In*: JORNADA ODONTOLÓGICA "PROF. LUIZ FERREIRA MARTINS", 30, Araraquara, 1976. *Resumos*. Araraquara, Faculdade de Farmácia e Odontologia, 1976. p. 47-9.
8. LEONARDO, M. R.; ROTHIER, A.; LIA, R. C. C.; MARTINS, J. C. R. & D'AVILLA PACCA, C. A. — Estudo do comportamento de três materiais utilizados na obturação dos canais radiculares. II — Efeito citotóxico. *Rev. Ass. Paul. Ciurg. Dent.*, 32:409-422, 1978.
9. MAURICIO, C. V. — *Estudo histomorfológico do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante de pastas à base de hidróxido de cálcio, contidas em tubos de dentina humana*. Araraquara, Faculdade de Odontologia, Unesp, 1980. (Tese-Mestrado).
10. McDONALD, R. E.; ZAWAWI, H. A. M. & MITCHELL, D. F. — Rat connective tissue reaction to implants of pulp capping materials. *J. dent. Res., Chicago*, 38:738, 1959.
11. MELLO, W.; HOLLAND, R. & SOUZA, V. - Capramento pulpar com hidróxido de cálcio ou pasta de óxido de zinco e eugenol. *Rev. Fac. Odont., Araraquara*, 1:33-44, 1972.
12. MELLO, B. A. — *Estudo comparativo do comportamento histológico do tecido conjuntivo subcutâneo de ratos a implantes de tubos de polietileno contendo cimentos utilizados na obturação de canais radiculares*. São Lourenço da Mata, PE, Faculdade de Odontologia de Pernambuco, 1977. (Tese-Mestrado)
13. MITCHELL, D. F. & AMOS, E. R. — Reactions of connective tissue of rats to implanted dental materials. *Int. Ass. Dent. Res.*, 35:59-60, 1957. (Abstr.)
14. MORSE, A. — Formic acid-sodium citrate descalcification and butyl alcohol dehydration of teeth and bone for sectioning in paraffin. *J. dent. Res.*, 24:143, 1945.
15. RHÖNER, A. — Calxil als wurzelfüllungsmaterial nach pulpaextirpation. *Sehweiz. Mscher. Zahnheilk.*, 50:903-48, 1940.
16. ROTHIER, A.; LEONARDO, M. R.; LIA, R. C. C.; D'AVILLA PACCA, C. A. & MARTINS, J. C. R. — Antibacterial efficacy and cytotoxicity of three root canal sealers. *J. Endod. Special Reporter*, 2:358, 1976.
17. SOUZA, V. — *Reação do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante de tubos de dentina com aberturas de diferentes diâmetros, preenchidos com algumas pastas à base de hidróxido de*

- cálcio. Estudo histológico.* Araçatuba, Faculdade de Odontologia, Unesp, 1976. (Tese-Livre Docência)
18. TOLEDO, O. A.; ABBUD, R. & LIA, R. C. C. — Reação do tecido conjuntivo do rato ao implante de fármacos à base de hidróxido de cálcio. Estudo histológico. *Rev. Fac. Odont. Araraquara*, 7:163-72, 1973.
 19. VONO, R. M. G.; LIA, R. C. C. & MARTINS, J. C. R. — Reação do tecido subcutâneo do rato sob materiais à base de hidróxido de cálcio (M. P. C. Hypocal). Estudo histológico. *Rev. Fac. Farm. Odont. Araraquara*, 10(supl. 1):19-30, 1976.
 20. VONO, R. M. G. & LIA, R. C. C. — Reação da polpa do molar do rato sob materiais à base de hidróxido de cálcio (MPC e Hypocal). Estudo histológico. *Rev. Fac. Odont. Araraquara*, 1:245-260, 1978.
 21. VONO, R. M. G.; LIA, R. C. C.; MARTINS, J. C. R. & TOLEDO, O. A. — Reação da polpa de pré-molares humanos sob materiais à base de hidróxido de cálcio (MPC e Hypocal). Estudo histológico. *Rev. Odont. UNESP*, 13:51-60, 1984.
 22. YOSHIKI, S. & MORI, M. — Enzyme histochemistry on the tissue reaction to calcium hydroxide. *Bull. Tokyo Dent. Coll.*, 2:32-43, 1961.
 23. ZANONI, E. M. S.; LIA, R. C. C. & LEONARDO, M. R. — Compatibilidade biológica de materiais odontológicos à base de hidróxido de cálcio. Estudo histomorfológico em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.* (no prelo)

Recebido para publicação em 24.07.84.