

Estudo morfológico da resposta tecidual a quatro cimentos endodônticos

**Fábio Tobias PERASSI^a, Fernanda Geraldes PAPPEN^b,
Idomeo BONETTI FILHO^b, Renato de Toledo LEONARDO^b,
Frank YKEDA^c, Lizeti Toledo de Oliveira RAMALHO^c**

^a*Disciplina de Endodontia, Faculdades Adamantinenses Integradas, FAI,
17800-000 Adamantina - SP, Brasil*

^b*Departamento de Odontologia Restauradora, Faculdade de Odontologia, UNESP,
14801-903 Araraquara - SP, Brasil*

^c*Departamento de Morfologia, Faculdade de Odontologia, UNESP,
14801-903 Araraquara - SP, Brasil*

Perassi FT, Pappen FG, Bonetti Filho I, Leonardo RT, Ykeda F, Ramalho LTO. Morphological study of tissue reaction to four different root canal sealers. Rev Odontol UNESP. 2008; 37(2): 117-124.

Resumo: Este estudo teve como objetivo comparar a biocompatibilidade de um cimento experimental à base de polímero da mamona (Poliquil[®]) acrescido de um agente radiopacificador (óxido de zinco), com os cimentos EndoREZ[®]; Endofill[®] e Sealapex[®]. Os cimentos foram implantados em tubos de polietileno no tecido subcutâneo dorsal de camundongos *Mus musculus albinus* machos. As avaliações foram realizadas em dois períodos experimentais: 7 e 50 dias. Após estes períodos, os animais foram mortos, os fragmentos teciduais removidos cirurgicamente e processados por meio de técnicas histológicas de rotina. Foram atribuídos escores de acordo com a intensidade do infiltrado inflamatório e as características da cápsula fibrosa em torno do material implantado. Os resultados demonstraram menor infiltrado inflamatório e maior formação de cápsula fibrosa ao redor dos implantes de cimento Poliquil, derivado do polímero da mamona; os cimentos Endofill e Sealapex causaram infiltrado inflamatório moderado aos 7 dias, e discreto aos 50 dias, sendo que houve maior formação de cápsula fibrosa ao redor do cimento Sealapex. O cimento EndoREZ ocasionou a maior irritação tecidual quando comparado aos demais cimentos. Em ordem decrescente, os resultados demonstraram maior biocompatibilidade dos cimentos Poliquil, Sealapex, Endofill, EndoREZ.

Palavras-chave: *Teste de biocompatibilidade; obturação do canal radicular; materiais restauradores do canal radicular; Ricinus communis.*

Abstract: The aim of this study was to compare the biocompatibility of an experimental root canal sealer, castor polymer based (Poliquil) with the addition of a radiopaque agent (zinc oxide), with other sealers, commercially available: EndoREZ; Endofill and Sealapex. The sealers were implanted in polyethylene tubes, in the subcutaneous tissue of *Mus musculus albinus* male rats. The evaluation was made in two different experimental periods: 7 and 50 days. After this, the animals were killed and the tissue removed to histological evaluation. Scores were attributed according to the inflammatory tissue response and fiber capsule formation among the tested material. The results showed less inflammation and a greater fiber capsule among Poliquil, castor polymer based; Endofill and Sealapex sealers caused moderate inflammation in 7 days, and slight inflammation in 50 days. However, Sealapex formed a greater fiber capsule. EndoREZ induced more tissue irritation when compared to the other sealers. The results showed that Poliquil has better biocompatibility followed by Sealapex, Endofill and EndoREZ.

Keywords: *Materials testing; root canal obturation; root canal filling materials; Ricinus communis.*

Introdução

Durante o tratamento endodôntico, após o diagnóstico, é realizado o preparo biomecânico dos canais radiculares, através de meios químicos, físicos e mecânicos, o canal radicular é limpo e conformado para receber a medicação intracanal e/ou o material obturador. Das fases operatórias envolvidas no tratamento endodôntico, a obturação deve merecer especial atenção, uma vez que serão introduzidos nos canais radiculares materiais que ficarão em contato permanente com os tecidos apicais e periapicais¹.

Atualmente, uma ampla variedade de cimentos endodônticos está disponível no mercado. No entanto, existem falhas nas propriedades tanto químico-mecânicas quanto biológicas, na maioria destes cimentos²⁻⁶. O cimento endodôntico ideal deveria ser não irritante aos tecidos periapicais e biocompatível com o tecido conjuntivo⁷.

As propriedades biológicas dos cimentos endodônticos vêm sendo avaliadas por meio de diferentes metodologias: implantes em tubos de dentina humana em tecido subcutâneo de cobaias⁸; em tubos de polietileno^{9,10}; em lamínulas de vidro¹¹; diretamente no tecido ósseo¹²; em cultura de células L929¹³; através da liberação de citocinas¹⁴⁻¹⁵.

Em 1984, foi desenvolvida uma nova poliuretana vegetal extraída do óleo de mamona ou *Ricinus communis*, a qual vem demonstrando resultados promissores com relação à biocompatibilidade, osseointegração, ação antimicrobiana¹⁶⁻²⁰.

O objetivo deste estudo foi comparar a biocompatibilidade de um cimento experimental à base de polímero da mamona (Poliquil) acrescido de um agente radiopacificador (óxido de zinco), com outros cimentos já disponíveis comercialmente: EndoREZ (Ultradent); Endofill (Dentsply); e Sealapex (SybronKerr).

Material e método

Este trabalho teve a aprovação do Comitê de ética em experimentação animal - CEEA da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP sob o n° 14/2003.

Tubos de polietileno (Johnson & Johnson, São José dos Campos, SP, Brasil), com 10 mm de comprimento e 1,5 mm de diâmetro interno, tiveram uma das extremidades seladas com uma pinça clínica aquecida em lâmpada a álcool. Após 30 minutos mantidos em autoclave a uma temperatura de 121 °C para esterilização, foram preenchidos com os cimentos endodônticos por meio de um instrumento Lentulo (Dentsply/Maillefer - Maillefer Instruments AS, Ballaigues, Switzerland) acionado por um motor elétrico (Nouvag AG TCM 3000, USA) em 1000 rpm, evitando assim a formação de bolhas. Os cimentos testados por esta metodologia foram: Sealapex (SybronEndo Corporation, Orange, CA, USA); Endofill (Dentsply HERO Ind e

Com Ltda., Petrópolis, RJ, Brasil); EndoREZ (Ultradent Products, Inc., South Jordan, UT, USA); Poliquil com óxido de zinco (Araraquara Polímeros Químicos Ltda. Araraquara, SP, Brasil).

Foram utilizados 26 camundongos (*Mus musculus albinus*) machos, com peso corporal médio de 40 gramas. Os animais foram anestesiados com Francotar (Virbac do Brasil Indústria e Comércio Ltda, Jurubatuba, SP, Brasil) - anestésico geral, 0,08 mL/100 g, e Virbaxyl (Virbac do Brasil Indústria e Comércio Ltda, Jurubatuba, SP, Brasil) - relaxante muscular e sedativo, 0,04 mL/100 g.

Foi realizada uma incisão cirúrgica na linha média, transversal ao corpo, com 4 mm de comprimento, equidistante da inserção da cauda e da cabeça do animal, após tricotomia da região dorsal e anti-sepsia do campo operatório com detergente de mamona 16%. O tecido subcutâneo foi divulsionado lateralmente, formando duas lojas cirúrgicas para acomodação do implante, uma de cada lado e distantes, aproximadamente, 15 mm da incisão transversal. Os implantes foram realizados de acordo com os grupos experimentais. Por fim, as bordas da ferida foram suturadas.

Os animais foram divididos em grupos correspondendo aos cimentos testados e períodos de avaliação. Em cada animal, foram implantados 2 tubos de polietileno, cada um com um cimento. Portanto, em um mesmo animal, tinha-se o grupo I e II; ou III e IV; ou grupo V. No grupo V, ou grupo controle, foram implantados 2 tubos de polietileno vazios em cada animal.

Decorridos os períodos de 7 e 50 dias, os animais foram novamente anestesiados para remoção do tecido cutâneo, subcutâneo e tubo de polietileno com suficiente margem de segurança. As peças foram imersas em formol tamponado. Em seguida, os animais foram mortos por sobredose anestésica de hidrato de cloral a 10% (100 mL de água deionizada/10 g de hidrato de cloral), intraperitoneal.

Após fixação por 96 horas, as peças foram desidratadas, incluídas em parafina e feitos cortes semi-seriados de 6 µm de espessura. Os cortes foram corados com Hematoxilina e Eosina e Tricrômico de Mallory.

A avaliação histológica ocorreu sob a forma de duplo cego. Foram analisadas a intensidade do infiltrado inflamatório e a formação de cápsula fibrosa em torno da abertura do tubo de polietileno contendo o cimento.

A intensidade do infiltrado inflamatório foi graduada em não significativa, discreta, moderada e intensa, de acordo com a ISO 10993-3 1992, cujos valores e características estão contidos na Tabela 1.

A cápsula fibrosa em torno da abertura do tubo de polietileno foi graduada em ausente, discreta, moderada, e espessa (Tabela 2).

Tabela 1. Critérios atribuídos para graduação da intensidade do infiltrado inflamatório

Escores	Células inflamatórias
0	Nenhuma ou poucas células próximas à abertura do tubo, caracterizando tecido conjuntivo normal
1	Discreta quantidade de polimorfonucleares ou mononucleares, e as características histológicas do tecido conjuntivo subcutâneo estavam ainda identificáveis
2	Moderada quantidade de células inflamatórias, mas sem tecido necrótico, podendo haver desarranjo das características histológicas do tecido conjuntivo subcutâneo
3	Denso infiltrado inflamatório junto à abertura do tubo, com presença de abscesso e possibilidade de tecido necrótico

Tabela 2. Critérios atribuídos para graduação da formação da cápsula fibrosa

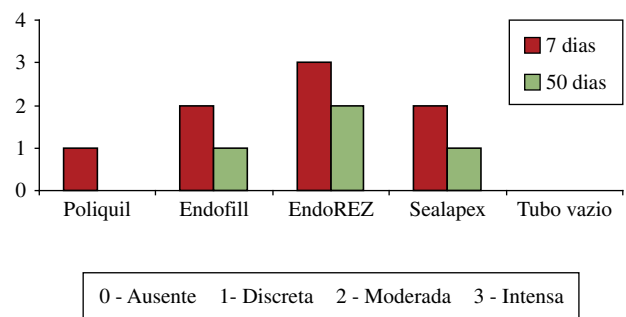
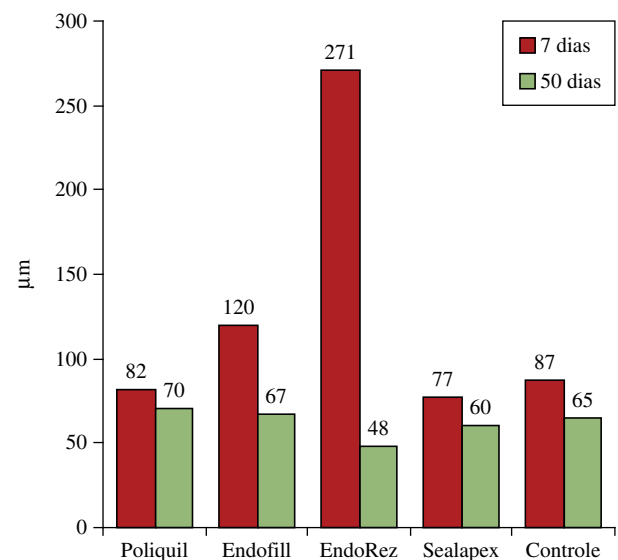
Escores	Cápsula fibrosa
0	Equilíbrio entre a população celular e a substância intercelular
1	Leve predomínio da substância intercelular fibrosa sobre a população celular
2	Predomínio e orientação da substância intercelular fibrosa sobre a população celular
3	Caracterização da formação e orientação das fibras colágenas e poucas células de preenchimento

Resultado

As representações gráficas dos valores obtidos para os dois aspectos histológicos analisados estão contidas nas Figuras 1 e 2. Na Figura 1, está representada em escores a relação entre a reação do tecido conjuntivo frente aos cimentos testados. A Figura 2 representa graficamente a média das espessuras das áreas reacionais do tecido conjuntivo em contato com os materiais testados nos dois períodos experimentais.

7 dias

A análise histológica dos grupos experimentais demonstrou que todos apresentaram alguns eventos comuns entre si, como marginação leucocitária, hiperemia vascular e reação inflamatória leve ou moderada com predominância de neutrófilos polimorfonucleares e macrófagos (Figuras 3 e 4). O cimento Endofill e EndoRez apresentaram, além dos eventos comuns a todos os outros achados histológicos,

**Figura 1.** Representação gráfica dos resultados em escores com relação ao infiltrado inflamatório, dos grupos avaliados, nos dois períodos experimentais.**Figura 2.** Representação gráfica da espessura média em micrômetros do tecido reacional frente aos cimentos aos 7 e 50 dias de observação.

uma delgada camada de células necróticas (Figuras 5 e 6). Apenas o cimento EndoRez apresentou camada de tecido reacional espesso e acúmulo de líquidos entre a substância intercelular (Figura 5). Na análise histológica do grupo controle, a abertura do tubo vazio exposta ao tecido conjuntivo não apresentou eventos vasculares nem celulares característicos de reação inflamatória (Figura 7).

50 dias

No período tardio de análise, todos os espécimes apresentaram diminuição do número de células inflamatórias (Figura 8 e 9). Sendo que apenas nos cimentos Endofill e EndoRez houve persistência de leve infiltrado inflamatório com presença de fina cápsula fibrosa e delgada faixa de tecido amorfo na abertura do tubo (Figuras 10 e 11),

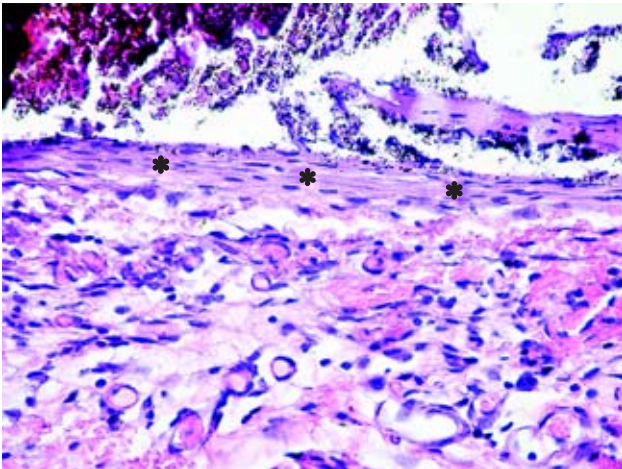


Figura 3. Sealapex 7 dias. Fina cápsula fibrosa (*) na interface entre o tecido conjuntivo e o material obturador. Presença de alguns vasos sanguíneos hiperemiados, marginação leucocitária.

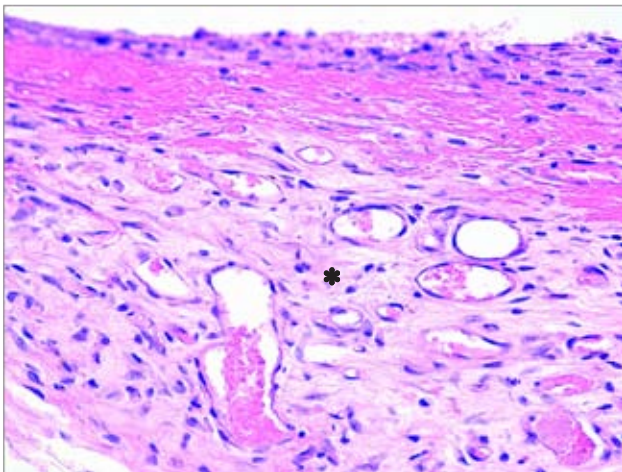


Figura 4. Cimento experimental 7 dias. Tecido conjuntivo com fibras colágenas dispostas paralelamente formando fina cápsula fibrosa. Tecido conjuntivo à distância com aspecto de normalidade, equilíbrio entre células e substância extracelular (*).

ainda que o tecido conjuntivo adjacente possuísse aspecto de normalidade muito semelhante ao grupo controle (Figuras 11 e 12).

Discussão

Até os dias atuais, permanece a dificuldade em se encontrar materiais que possam ser reconhecidos pelo organismo como parte de sua estrutura e não como agressores aos tecidos vivos. Um material biocompatível não deve inteirarse negativamente com o sistema de defesa do hospedeiro, causar reação inflamatória nos tecidos circundantes, hemólise ou destruição das células sanguíneas²¹.

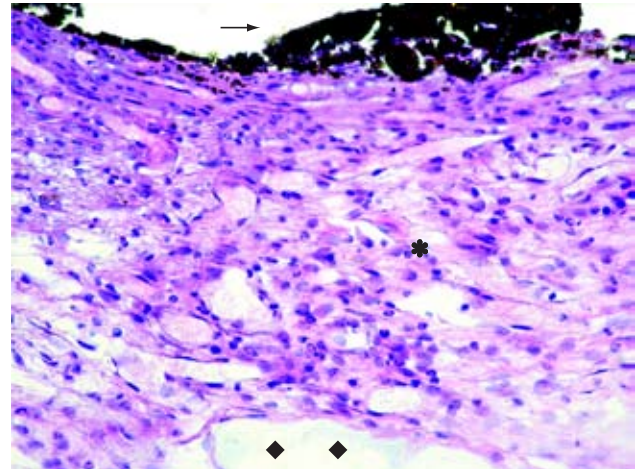


Figura 5. EndoRez 7 dias. Cimento endodôntico disperso na superfície do tecido conjuntivo (→), presença de células polimorfonucleares, regiões com acúmulo de líquidos (") e tecido conjuntivo com poucas fibras colágenas (*).

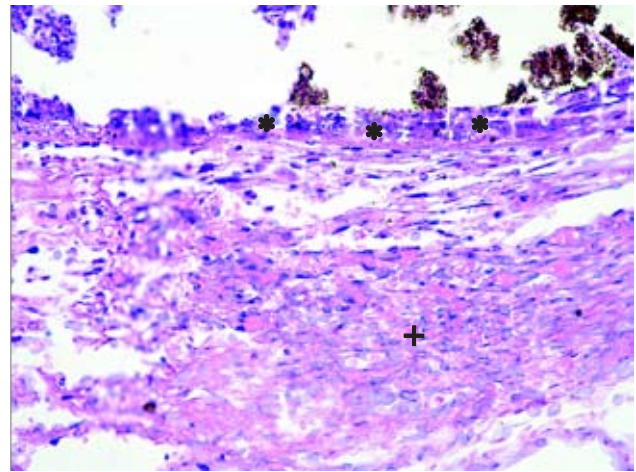


Figura 6. Endofill 7 dias. Necrose (*) com células em degeneração na superfície de contato com o material obturador, fibras colágenas pouco organizadas com presença de infiltrado inflamatório agudo (+).

Este estudo foi realizado em tecido conjuntivo subcutâneo de ratos, por ser esta uma metodologia controlada, com poucas variáveis, que permite obter resultados em curto período de tempo, com baixo custo. Esse tipo de experimento tem sido recomendado pela *Fédération Dentaire Internationale e International Standard-ISO*, como preliminares e indicativos para comparar o grau de irritabilidade dos materiais odontológicos²². Essa avaliação dos materiais odontológicos e dos seus componentes é recomendada antes de serem indicados para uso clínico²³ e permite uma padronização da área de contato tecido/material, dando a oportunidade de se comparar a biocompatibilidade de um material recentemente manipulado²⁴.

Os resultados deste trabalho demonstraram que a reação inflamatória observada nos grupos experimentais foi sempre mais intensa do que no grupo controle. Isto confirma que a técnica cirúrgica parece não influenciar decisivamente nos resultados obtidos. As características citotóxicas inerentes aos componentes dos materiais avaliados determinaram a reação tecidual do animal.

De acordo com os resultados, o cimento Poliquil, derivado do polímero de mamona, demonstrou compatibilidade biológica, uma vez que este provocou reação inflamatória suave ou nenhuma, semelhante ao observado com o grupo controle aos 7 e 50 dias. Aos 7 dias, o Poliquil apresentou uma reação próxima à normalidade, indo de encontro com as observações de Olsson et al.²³, que afirmaram que, no

período de 7 dias, as reações inflamatórias atribuídas ao material ainda estão mascaradas pelas reações do ato cirúrgico durante o implante do tubo de polietileno.

Saran²⁵ observou histologicamente, através do implante do polímero da mamona em canal medular da tíbia de coelhos, que este material é biocompatível, osteoindutor e osteocondutor. A análise radiográfica realizada pelo autor demonstrou boa interação entre o polímero implantado e o canal medular.

A biocompatibilidade do polímero de mamona pode ser explicada pelo fato deste polímero apresentar estrutura de alta pureza, não contendo solventes, detritos, estabilizadores e produtos de degradação presentes em outras poliuretanas, que seriam as responsáveis pelas respostas orgânicas adversas²⁶.

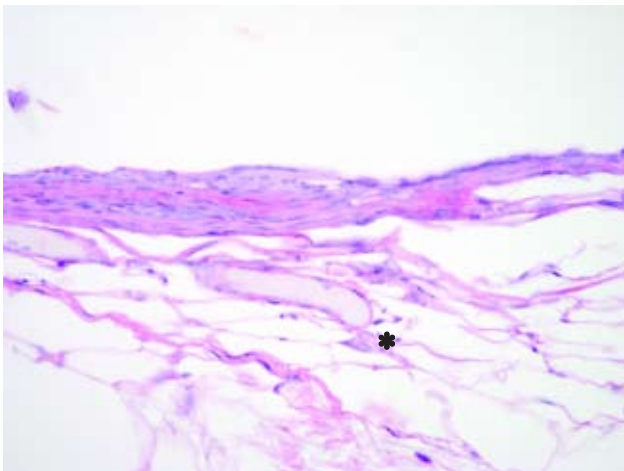


Figura 7. Controle 7 dias. Tecido conjuntivo normal. Note o vaso sanguíneo sem hiperemia, presença de fibroblastos em meio às fibras colágenas imaturas. Poucos macrófagos e ausência de infiltrado inflamatório (*).

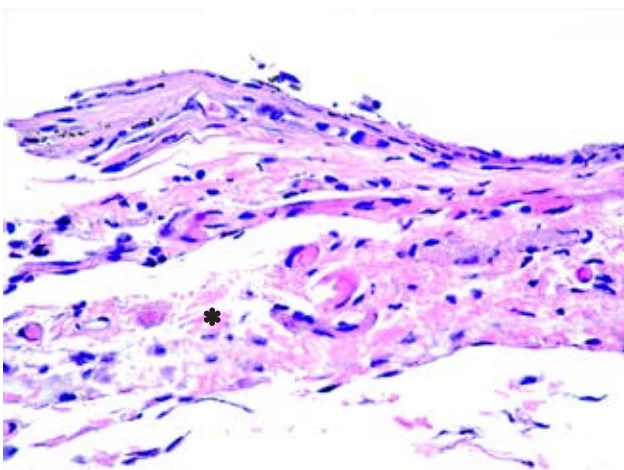


Figura 8. Sealapex 50 dias. Ausência de cápsula fibrosa com equilíbrio entre células residentes do tecido conjuntivo e substância amorfa extracelular (*).

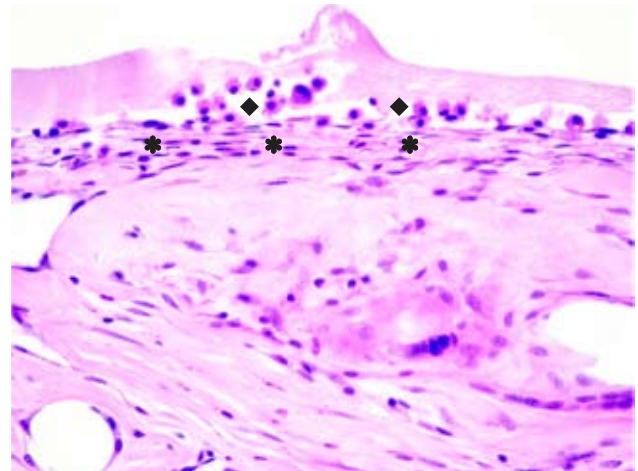


Figura 9. Poliquil 50 dias. Superfície de contato com macrófagos (*), ausência de cápsula fibrosa sem infiltrado inflamatório (*).

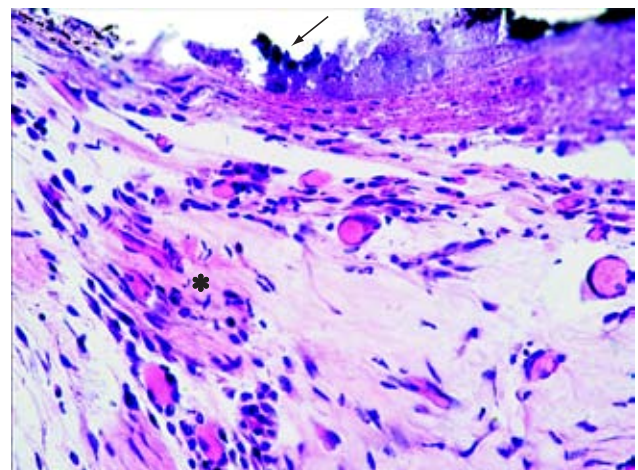


Figura 10. EndoRez 50 dias. Presença de macrófagos ativos (*) e persistência de tecido amorfo na interface de contato com o material obturador (→).

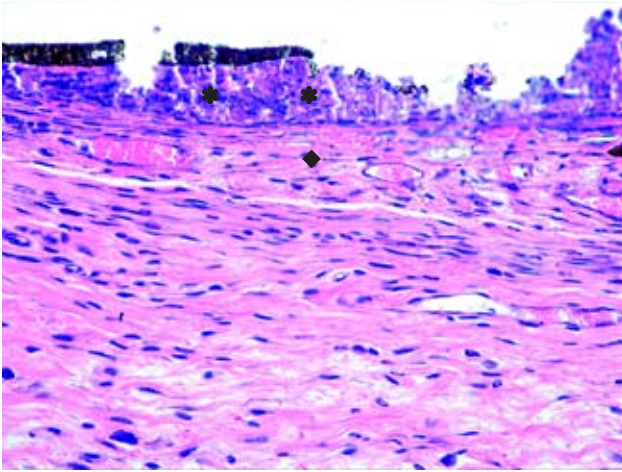


Figura 11. Endofill 50 dias. Persistência de regiões com células degeneradas (*) e fina cápsula fibrosa na superfície de contato com o cimento obturador (◊), vasos sanguíneos com ligeira hiperemia e tecido conjuntivo à distância com aspecto de normalidade.

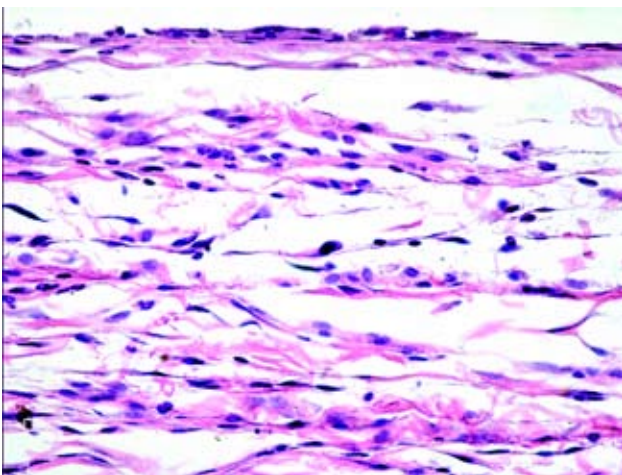


Figura 12. Controle 50 dias. Tecido conjuntivo com aspecto de normalidade.

A poliuretana de mamona pode ser utilizada na forma pura ou em associação com o carbonato de cálcio, apresentando uma reação exotérmica pequena (42-45 °C) e, em contato com o meio líquido, ocorreu aumento de volume por reação primária com a água. O pH alcalino do carbonato de cálcio poderia estimular uma resposta orgânica, liberando íons cálcio, ressaltando também, que a substância básica do *Ricinus communis* é um ácido graxo, que teria o comportamento de um lipíde, permitindo sua degradação por um mecanismo de lipólise. Pascon et al.¹⁶ observaram que a troca do carbonato de cálcio pelo sulfato de bário, produto este utilizado para a obtenção de contraste radiográfico, diminuiu significativamente a toxicidade da poliuretana.

Estudos de adição de componentes podem beneficiar biologicamente o cimento, bem como alterar suas propriedades físico-químicas. O estudo de componentes dos cimentos endodônticos de forma individual ou associado em pequenos grupos pode ser o caminho para se obter o cimento obturador mais próximo do ideal, englobando tanto propriedades biológicas quanto físico-químicas. Para isso, este estudo inédito se propôs avaliar a biocompatibilidade in vivo da associação do óxido de zinco como agente radiopacificador, pois apenas o cimento de mamona não apresenta propriedades de radiopacidade ideais a um cimento endodôntico. A adição deste radiopacificador não influenciou na biocompatibilidade do cimento de mamona observado por outros autores que anteriormente avaliaram as propriedades biológicas apenas do cimento de mamona. É importante ressaltar que também se fazem necessários futuros estudos das propriedades físico-químicas desta fórmula, e também comparações com outros agentes radiopacificadores, como o sulfato de bário, dióxido de titânio, subnitrito de bismuto, iodofórmio e hidróxido de cálcio, sendo estes capazes de influenciar nas propriedades físico-químico-biológicas dos cimentos endodônticos.

Com relação ao Sealapex, aos 7 dias, notou-se uma cápsula fibrosa de espessura discreta com uma grande população celular, com presença de macrófagos com partículas negras do material. Já aos 50 dias, o tecido conjuntivo próximo ao material mostrou-se denso, dentro da normalidade e, ainda, observaram-se macrófagos ativos com partículas do material, distantes da abertura do tubo, mostrando seu grau de dispersão através do tecido conjuntivo. Estes achados estão apoiados na literatura, na qual o Sealapex tem demonstrado excelentes propriedades biológicas e capacidade de induzir deposição de tecido mineralizado ao nível do forame apical^{27,28}.

Segundo a maioria dos autores, o cimento de óxido de zinco e eugenol, no que se refere à biocompatibilidade, não apresenta comportamento favorável^{29,30}. Quando o cimento de óxido de zinco e eugenol é colocado em contato com tecido úmido, ele atinge níveis tóxicos com facilidade após uma hora e trinta minutos, permanecendo ativo nos tecidos por cerca de cem horas³¹. Isto pode justificar os resultados deste estudo, pois, aos 7 dias, verificou-se que a cápsula fibrosa ao redor do Endofill, apresentava-se menos organizada, com presença de polimorfonucleares, em sua maior parte em degeneração. No tecido conjuntivo adjacente, observamos infiltrado inflamatório moderado com presença de mononucleares. Contudo, aos 50 dias, a resposta tecidual ao implante assemelhou-se ao observado com o Sealapex, exceção feita ao conteúdo citoplasmático dos macrófagos.

A persistência de um material obturador em contato com os tecidos periapicais pode permitir o reparo ou até induzi-lo. Isto ocorre quando o potencial de agressão inexistente, o que é ideal para o restabelecimento da normalidade da região apical e periapical. A maioria dos materiais endodônticos

obturadores permite reparo, porém associado a uma resposta inflamatória mais ou menos duradoura. Isso significa que o organismo está, de alguma forma, reconhecendo algo como estranho quando o material entra em contato com os tecidos apicais e/ou periapicais³².

De um modo geral, com exceção do cimento Poliquil e do grupo controle, os materiais implantados mostraram-se irritantes ao tecido conjuntivo subcutâneo do rato, provocando reações de diferentes intensidades e que sofreram variações com o passar do tempo. Assim, no período experimental de 7 dias, o Sealapex e Endofill provocaram uma reação tecidual classificada como moderada e, aos 50 dias, discreta.

O EndoREZ é um cimento de metacrilato, hidrofílico, que contém, dentre outros componentes, óxido de zinco, sulfato de bário, resinas e pigmentos em uma matriz de dimetacrilato de uretano. No presente estudo, o cimento EndoREZ provocou inicialmente irritação severa dos tecidos periapicais e, após 50 dias, este infiltrado inflamatório já era moderado. Da mesma forma, Sousa et al.³³, em estudo com implantes de tubos de polietileno em tecidos subcutâneos de ratos, demonstraram uma reação inflamatória severa após 30 dias e uma reação inflamatória moderada após 3 meses, com ausência de inflamação no quarto mês do período experimental. Estes resultados concordam com estudos prévios que demonstraram intensa reação inflamatória em tecido conjuntivo em contato com o cimento EndoREZ^{34,35}.

Embora o Endofill tenha se mostrado um irritante tecidual inicialmente, aos 50 dias caracterizou-se a formação de uma cápsula fibrosa com um discreto infiltrado inflamatório. O poder irritante é atribuído ao eugenol que atua inicialmente sobre o tecido, sendo aos poucos eliminado, permitindo um reparo, embora mais lento, normal após certo período de tempo, concordando com os achados de Barbosa et al.²⁹, Mittal et al.³⁶ e Gulati et al.³⁷.

Semelhante comportamento foi observado no grupo em que foi utilizado o cimento EndoREZ, no qual o infiltrado inflamatório, embora severo aos 7 dias, foi diminuindo com o passar do tempo.

A partir desta metodologia, tendo como critério de avaliação a evolução dos resultados obtidos nos períodos experimentais precoce de 7 dias e tardio de 50 dias, notou-se que todos os materiais apresentaram resultados favoráveis e biocompatibilidade aceitável, já que todos os grupos experimentais apresentaram evolução favorável à reparação tecidual e tendência à resolução do dano tecidual aos 50 dias. É importante salientar que não houve nenhum grupo experimental que demonstrou tendência à cronificação da reação inflamatória e conseqüente perpetuação da lesão. Todos os grupos experimentais apresentaram reação moderada ou discreta no período precoce de observação, evoluindo para ausência ou reação inflamatória discreta no período tardio de observação²².

Conclusão

Avaliando os resultados obtidos a partir da metodologia utilizada, pode-se concluir que:

- O cimento experimental derivado do polímero de mamona, Poliquil, demonstrou, através de seu comportamento biológico in vivo, ser um cimento promissor para obturação do sistema de canais radiculares;
- Em ordem decrescente, os resultados demonstraram maior biocompatibilidade dos cimentos Poliquil > Sealapex > Endofill > EndoREZ.

Referências

1. Leonardo M, Silva L. Medicação tópica entre sessões, “curativo de demora” em biopulpectomia e necropulpectomias I e II. In: Leonardo MR, Leal JM Endodontia: tratamento de canais radiculares. 3ª ed. São Paulo: Ed. Medica Panamericana; 1998.
2. Gutmann J, Witherspoon D. Obturation of the cleared and shaped root canal system. Pathways of the pulp. 8th ed. St. Louis: Mosby; 2003.
3. Orstavik D, Mjor IA. Histopathology and X-ray-microanalysis of the subcutaneous tissue-response to endodontic sealers. J Endod. 1988;14:13-23.
4. Economides N, Kotsaki-Kovatsi VP, Pouloupoulos A, Kolokuris I, Rozos G, Shore R. Experimental study of the biocompatibility of four root canal sealers and their influence on the zinc and calcium content of several tissues. J Endod. 1995;21:122-7.
5. Zafalon EJ, Versiani MA, de Souza CJ, Moura CC, Dechichi P. In vivo comparison of the biocompatibility of two root canal sealers implanted into the subcutaneous connective tissue of rats. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007;103:e88-94.
6. Hauman CH, Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 2. Root-canal-filling materials. Int Endod J. 2003;36:147-60.
7. Schwarze T, Fiedler I, Leyhausen G, Geurtsen W. The cellular compatibility of five endodontic sealers during the setting period. J Endod. 2002;28:784-6.
8. Provêncio A. Estudo de pastas à base de hidróxido de cálcio, utilizadas para obturação de canais radiculares. Avaliação histopatológica [dissertação mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 1982.
9. Costa C, Bacalhau J, Hebling J. Estudo preliminar da biocompatibilidade de diferentes cimentos utilizados na terapia pulpar. Rev Pós-Grad. 2003;10:25-36.
10. Holland R, Souza V, Holland Jr C, Nery M. Estudo histológico do comportamento do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante de alguns materiais obturadores de canal radicular. Influência da proporção pó/líquido. Rev Assoc Paul Cir Dent. 1971;25:101-10.

11. Camargo W. Interação dos cimentos Sealapex e CRCS com os macrófagos: estudo morfológico dos efeitos citotóxicos [dissertação mestrado]. Bauru: Faculdade de Odontologia da USP; 1993.
12. Pertot WJ, Camps J, Remusat M, Proust JP. In vivo comparison of the biocompatibility of two root canal sealers implanted into the mandibular bone of rabbits. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1992;73:613-20.
13. Ersev H, Schmalz G, Bayirli G, Schweikl H. Cytotoxic and mutagenic potencies of various root canal filling materials in eukaryotic and prokaryotic cells in vitro. *J Endod.* 1999;25:359-63.
14. Leonardo R. Avaliação da citotoxicidade de cimentos endodônticos, quanto à alteração morfológica e a liberação de peróxido de hidrogênio, em culturas de macrófagos peritoneais de camundongos [tese doutorado]. Bauru: Faculdade de Odontologia da USP; 1997.
15. Perassi FT, Bonetti Filho I, Berbert FL, Carlos IZ, Toledo Leonardo R. Secretion of tumor necrosis factor-alpha by mouse peritoneal macrophages in the presence of dental sealers, sealapex and endomethasone. *J Endod.* 2004;30:534-7.
16. Pascon EA, Sousa CJA, Martinelli F, Langeland K. Biocompatibilidade de materiais endodônticos. Citotoxicidade da resina poliuretana derivada do óleo de mamona - parte 1. *Rev Assoc Bras Odontol Nac.* 2000;8:238-46.
17. Calixto R, Teófilo J, Brentegani L, Lamano Carvalho T. Implante de um floculado de resina de mamona em alvéolo dental de rato. *Pesqui Odontol Bras.* 2001;15:257-62.
18. Ferreira CM, Rosa OPS, Torres SA, Ferreira FBAF, Bernardinelli N. Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacteria. *Braz Dent J.* 2002;13:118-22.
19. Pascon E, Sousa C, Langeland K. Biocompatibilidade de materiais endodônticos. Resposta do tecido subcutâneo de cobaias à resina poliuretana derivada do óleo de mamona - parte 2. *Rev Assoc Bras Odontol Nac.* 2000;8:283-95.
20. Pascon E, Sousa C, Langeland K. Biocompatibilidade de materiais endodônticos. Resposta do tecido ósseo de cobaia à resina poliuretana derivada do óleo de mamona - Parte 3. *Rev Assoc Bras Odontol Nac.* 2001;8:356-68.
21. Ignácio H. Utilização do cimento derivado do polímero da mamona no preenchimento da falha óssea. Estudo experimental em coelhos [dissertação mestrado]. Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia da USP; 1995.
22. Costa CAS. Testes de biocompatibilidade dos materiais odontológicos. In: Estrela C, editor. *Metodologia científica - ensino e pesquisa em odontologia.* São Paulo: Artes Médicas; 2001. p. 161-94.
23. Olsson B, Sliwkowski A, Langeland K. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. *J Endod.* 1981;7:355-67.
24. Kolokouris I, Economides N, Beltes P, Vlemmas I. In vivo comparison of the biocompatibility of two root canal sealers implanted into the subcutaneous connective tissue of rats. *J Endod.* 1998;24:82-5.
25. Saran WR. Estudo experimental de implantes derivados da resina poliuretana de mamona (*Ricinus communis*), inseridos no canal medular da tíbia de coelhos. Análise da interface osso e implante [dissertação mestrado]. São Carlos: Escola de Engenharia de São Carlos da USP; 2006.
26. Marchant RE, Anderson JM, Hiltner A, Castillo EJ, Gleit J, Ratner BD. The biocompatibility of solution cast and acetone-extracted cast Biomer. *J Biomed Mater Res.* 1986;20:799-815.
27. Holland R, de Souza V. Ability of a new calcium hydroxide root canal filling material to induce hard tissue formation. *J Endod.* 1985;11:535-43.
28. Leonardo MR, Almeida WA, da Silva LA, Utrilla LS. Histopathological observations of periapical repair in teeth with radiolucent areas submitted to two different methods of root canal treatment. *J Endod.* 1995;21:137-41.
29. Barbosa SV, Araki K, Spangberg LS. Cytotoxicity of some modified root canal sealers and their leachable components. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1993;75:357-61.
30. Yesilsoy C, Koren LZ, Morse DR, Kobayashi C. A comparative tissue toxicity evaluation of established and newer root canal sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1988;65:459-67.
31. Wilson AD, Batchelor RF. Zinc oxide-eugenol cements: II. Study of erosion and disintegration. *J Dent Res.* 1970;49:593-8.
32. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Inflamação e reparação. In: Robbins SL, editor. *Patologia estrutural e funcional.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996. p. 45-83.
33. Sousa CJ, Montes CR, Pascon EA, Loyola AM, Versiani MA. Comparison of the intraosseous biocompatibility of AH Plus, EndoREZ, and Epiphany root canal sealers. *J Endod.* 2006;32:656-62.
34. Zmener O. Tissue response to a new methacrylate-based root canal sealer: preliminary observations in the subcutaneous connective tissue of rats. *J Endod.* 2004;30:348-51.
35. Zmener O, Banegas G, Pameijer CH. Bone tissue response to a methacrylate-based endodontic sealer: a histological and histometric study. *J Endod.* 2005;31:457-9.
36. Mittal M, Chandra S, Chandra S. Comparative tissue toxicity evaluation of four endodontic sealers. *J Endod.* 1995;21:622-4.
37. Gulati N, Chandra S, Aggarwal PK, Jaiswal JN, Singh M. Cytotoxicity of eugenol in sealer containing zinc-oxide. *Endod Dent Traumatol.* 1991;7:181-5.