

Raul Capp Pallotta

Análise Qualitativa e Quantitativa da Resposta Inflamatória
Frente a Diferentes Medicamentos de Uso Endodôntico -
Iodofórmio e Hidróxido de Cálcio -, Quando Aplicadas
em Tecido Subcutâneo do Dorso de Rato

São Paulo

2003

Raul Capp Pallotta

2
Acad

**Análise Qualitativa e Quantitativa da Resposta Inflamatória Frente a
Diferentes Medicamentos de Uso Endodôntico – Iodofórmio e Hidróxido de
Cálcio -, Quando Aplicadas em Tecido Subcutâneo do Dorso de Rato.**

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia da Universidade de São
Paulo, para obter o título de Doutor pelo
Programa de Pós-Graduação em
Odontologia.

Área de Concentração: Endodontia

Orientador: Prof. Dr. Manoel Eduardo de
Lima Machado

São Paulo

2003

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Pallotta, Raul Capp

Análise Qualitativa e Quantitativa da Resposta Inflamatória Frente a Diferentes Medicamentos de Uso Endodôntico – Iodofórmio e Hidróxido de Cálcio -, Quando Aplicadas em Tecido Subcutâneo do Dorso de Rato.; orientador: Manoel Eduardo de Lima Machado. – São Paulo, 2003.

117 : fig.; 30cm.

Dissertação (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Endodontia) -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

1. Medicação Intracanal; 2. Hidróxido de Cálcio; 3. Iodofórmio; 4. Reação Inflamatória Periapical

CDD 617.69
BLACK D3322

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE E COMUNICADO AO AUTOR A REFERÊNCIA DA CITAÇÃO.

São Paulo, ____/____/____

Assinatura:

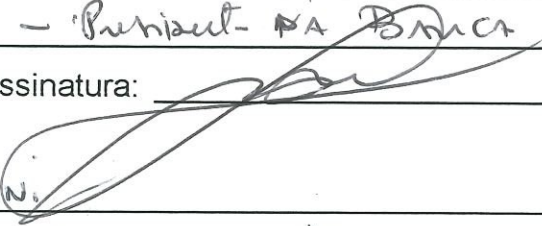
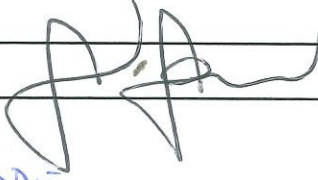
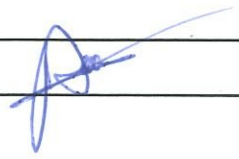
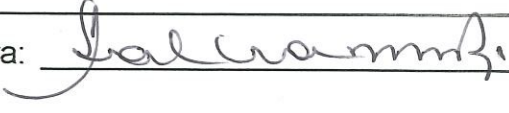
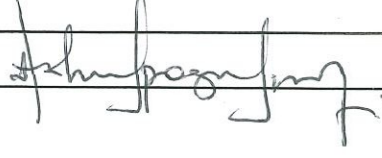
E-mail:

FOLHA DE APROVAÇÃO

Pallotta, R.C. Análise Qualitativa e Quantitativa da Resposta Inflamatória Frente a Diferentes Medicamentos de Uso Endodôntico – Iodofórmio e Hidróxido de Cálcio -, Quando Aplicadas em Tecido Subcutâneo do Dorso de Rato. [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2003.

São Paulo, 17/12/2003

Banca Examinadora

- 1) Prof(a). Dr(a). Manoel Evaristo de Lima Machado
Titulação: Prof. Livre Docente - Perícia da Banca
Julgamento: Aprovado Assinatura: 
- 2) Prof(a). Dr(a). GIULIO GAVIN
Titulação: PROFESSOR DOUTOR
Julgamento: APROVADO Assinatura: 
- 3) Prof(a). Dr(a). CARLOS ALBERTO ADDE
Titulação: PROFESSOR DOUTOR
Julgamento: Aprovado Assinatura: 
- 4) Prof(a). Dr(a). NORAIR SALVIANO DOS REIS
Titulação: PROFESSOR DOUTOR
Julgamento: APROVADO Assinatura: 
- 5) Prof(a). Dr(a). ARLINDO DI SPAGNA SOUZA
Titulação: PROFESSOR DOUTOR
Julgamento: APROVADO Assinatura: 

DEDICATÓRIA

A meus pais, **Raul e Maria José**,
por tanto carinho e amor, durante
tantos anos, pelo exemplo eu só
posso agradecer.

A **Carol**, meu verdadeiro amor,
eu sei que este é apenas o primeiro
de muitos objetivos que nós vamos
alcançar juntos.

Ao meu irmão **Rodney**, torço
muito por você para que encontre
seu caminho, sua vida, seu rumo,
eu sempre estarei do seu lado, não
importa a decisão que você tome.

A quem realmente merece de
direito, o **Raulzinho**, a criança
interior que hoje vive feliz dentro de
mim.

A **Deus**, o meu Deus, da forma e
jeito que eu conheço e que sei está
sempre do meu lado.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Manoel Eduardo de Lima Machado, cujo mérito profissional e capacidade de orientação são inigualáveis, muito obrigado pela paciência e pelos ensinamentos que de Endodontia são muitos, mas poucos quando comparados aos ensinamentos de vida.

Ao Prof. Dr. Norair Salviano dos Reis, mais que um co-orientador, um amigo aliás, de pelo menos duas gerações, uma pessoa simplesmente fantástica.

Ao Prof. Dr. Arlindo Di Spagna Souza, o sempre exemplo da disciplina, muito obrigado pelas orientações e principalmente pela amizade.

À Profa. Maria Letícia Borges Britto de Lima Machado, como companheira de trabalho pelo incentivo constante em busca de objetivos maiores

Ao Prof. Helder Massaro, é simplesmente um grande amigo, juntos estamos nesta caminhada por longos anos, muito obrigado.

Ao Prof. Daniel Pereira Correa, irmãos de uma nova família, sempre ao lado para ajudar, para apoiar e para dar uma palavra, um conselho, para que ambos possamos sempre evoluir.

Às pessoas que não hesitaram em botar a mão na massa para executar este trabalho e que não foram poucas, Pai, Mãe, Carol, Rodney, Norair, Fabio, Marcelo, como é bom ter amigos e pessoas que se importam com você.

Aos amigos com os quais eu trabalho ou tive oportunidade de trabalhar, Fernando Zapparoli, Rodrigo, Ricardo Batista, Alexandre, Anderson, Ricardo Affonso, e às amigas Michelle, Ana Lucia e Liliane que sempre que possível me ajudaram e tornaram possível a realização deste trabalho.

Ao amigo Nakao, meu irmão e companheiro, por acreditar sempre em mim e por saber valorizar o amigo.

A amiga Tatiana, pela atenção e disposição em ajudar na materialização desta, obrigado por entender a necessidade de disponibilidade do meu orientador.

Aos irmãos de uma nova família que tanto me ajudam dando energia positiva e que tanto colaboraram no meu desenvolvimento pessoal, sendo agora capaz de entender o quão importante é ter nesta vida amigos, pessoas que queiram realmente dar um novo sentido à vida.

Aos professores da disciplina de Endodontia da UNICSUL, Prof. Machado, Profa. Letícia, Prof. Arlindo, Ricardo, Renata, Maki, Carla e Michele.

Aos professores da disciplina de Clínica Integrada da UNICSUL, Paulo Bordini, Luciano, Mara, Maurício, Ilson, Edu e Mauricio Chebat, que se dispuseram a me auxiliar sempre que solicitados, entendendo minhas necessidades.

Aos funcionários do biotério da PUCAMP, pela disposição e colaboração na execução deste trabalho.

A tia Norma e Roberto, funcionários da disciplina de Patologia da PUCAMP pela confecção e elaboração das lâminas.

Aos demais colegas e amigos, bem como às pessoas que eu amo e que me amam que eu esqueci de agora citar, mas que sem esta energia eu não conseguiria chegar nem próximo de onde eu estou.

**“È Mais Fácil Desintegrar Um Átomo
Do Que Um Preconceito”**

(ALBERT EINSTEIN)

“Preocupe-se mais com seu caráter do que com sua reputação, porque seu caráter é o que você realmente é, enquanto sua reputação é apenas o que os outros pensam que você é, e o que eles pensam é problema deles.”

Pallotta, R.C. Análise Qualitativa e Quantitativa da Resposta Inflamatória Frente a Diferentes Medicções de Uso Endodôntico – Iodofórmio e Hidróxido de Cálcio -, Quando Aplicadas em Tecido Subcutâneo do Dorso de Rato. [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2003.

RESUMO

O presente estudo teve por objetivo avaliar quantitativa e qualitativamente as reações que o organismo desenvolve em relação a duas drogas utilizadas como medicação intracanal – iodofórmio e hidróxido de cálcio -, quando as mesmas são implantadas em dorso de ratos. Para tanto foram utilizados vinte ratos albinos (*Rattus norvegicus*, var albino, linhagem Wistar), nos quais foram realizadas duas incisões no seu dorso onde foram inseridas, para um mesmo animal, a medicação a ser testada em seu veículo e consistência de uso clínico. Os grupos experimentais eram representados pelo grupo do tecido normal, íntegro (GCI), a ferida controle (GCII) onde nenhuma medicação foi colocada e os grupos tratados com iodofórmio (FOD) e hidróxido de cálcio (FOE). Passados períodos de três, cinco e onze dias, a região onde foi implantada a medicação era removida em bloco com o tecido adjacente. Neste momento a condição macroscópica era observada. Os fragmentos eram levados para fixação em Bouin e processados para análise histológica com a coloração H-E e tricrômico de Mason. Os mesmos eram submetidos a análise qualitativa e quantitativa. Neste caso através da avaliação de fotomicrografias com 550X de aumento de campos representativos do subcutâneo que deveriam ser divididas em 100 pontos com uma grade onde as estruturas mais representativas deveriam ser contadas seguindo a seguinte denominação: células epiteliais, fibras colágenas, fibroblastos, macrófagos, linfócitos, neutrófilos, vasos e outras estruturas (áreas de necrose, fibrócitos, folículos pilosos, espaços,...). Pode ser observado que o FOD interferiu menos no processo de reparo enquanto o FOE mostrou grande área de necrose que demorou todo o período experimental para ser parcialmente recomposta. Já a análise quantitativa mostra para o FOD uma demora na inicialização da resposta, com um pico da reação inflamatória aos 5 dias; enquanto para o FOE uma grande área de necrose foi observada, demonstrando uma condição mais favorável após onze dias de estudo.

Palavras-Chave: Iodofórmio – Hidróxido de Cálcio – Reparo de Lesões – Endodontia – Reação Inflamatória - Periapical

Pallotta, R.C. Qualitative and quantitative analysis of the inflammatory reaction promoted by different endodontic dressings – calcium hydroxide and iodoformium – on the subcutaneous tissue of rats. [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2003.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the inflammatory reaction, by means of quantitative and qualitative analysis, of two drugs commonly used as intracanal dressing – iodoformium and calcium hydroxide. They were implanted in the subcutaneous tissue of rats (*Rattus norvegicus*, var albino, linhagem Wistar) with its clinical vehicle and consistency. Experimental groups were determined as GCI – normal skin; GCII – control group with no medication; FOD – treated with iodoformium; and FOE – treated with calcium hydroxide. Drugs were implanted and after three, five and eleven days, the implantation area was removed. In this moment, macroscopic evaluation was made. Fragments were fixed in BOUIN and processed for histological analysis in hematoxilin-eosin and Mason trichrome staining. The quantitative and qualitative analysis was proceeded by means of microscopic observation and photomicrographic analysis, looking for the most representative area and representative cells. It can be shown that the FOD group has caused less injure than the FOE group, and the first one has lasted long to start the reaction, but it was quicker than the other one, showing the top inflammatory reaction after five days, meanwhile, the FOE has a great necrosis area that last all experimental period to repair this area.

Key-works: Iodoformium – Calcium Hydroxide – Periapical Repair – Inflammatory Reaction - Endodontics

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Fig 5.1. – Fotografia do dorso do rato após 3 dias de P.O. - observação macroscópica dos grupos FOE (A) e FOD (B) mostrando aparente normalidade do tecido no FOD e área de necrose no grupo FOE 55
- Fig 5.2. – Fotografia do dorso do rato após 5 dias de P.O. - observação macroscópica dos grupos FOE (A) e FOD (B), mostrando no grupo FOE a área de edema, e no grupo FOD a presença de iodoformio circundada por um tecido aparentemente íntegro 55
- Fig 5.3. – Fotografia do dorso do rato após 11 dias de P.O. - observação macroscópica dos grupos FOE (A) e FOD (B) mostrando no grupo FOE a quantidade abundante de exsudato, e no grupo FOD, ainda a presença de iodoformio circundada por um tecido aparentemente íntegro 55
- Fig 5.4. Fotomicrografia – tecido celular subcutâneo do rato aos 3 dias de P.O. – A controle – GCII; B – iodoformio – FOD; C – hidróxido de cálcio – FOE. O corte A apresenta uma grande quantidade de células inflamatórias, fibras colágenas no FOD e a área de necrose no FOE 57
- Fig 5.5. Fotomicrografia – tecido celular subcutâneo do rato aos 5 dias de P.O. – A controle – GCII; B – iodoformio – FOD; C – hidróxido de cálcio – FOE. O corte A apresenta uma grande quantidade de células inflamatórias, o grupo FOD com a neovascularização e presença de células inflamatórias e no FOD e a área de necrose no FOE, bem como o início da resposta inflamatória 59
- Fig 5.6. Fotomicrografia – tecido celular subcutâneo do rato aos 11 dias de P.O. – A controle – GCII; B – iodoformio – FOD; C – hidróxido de cálcio – FOE. O corte A apresenta uma grande quantidade de fibras colágenas e fibroblastos, o grupo FOD com grande número de células inflamatórias e fibroblastos e no FOD, enquanto o FOE começa a se reorganizar, apesar da presença o hidróxido de cálcio 60
- Fig 5.7. Fotomicrografia – tecido celular subcutâneo do rato – A controle – GCII; B – iodoformio – FOD; C – hidróxido de cálcio – FOE. Os cortes apresentam colágeno tipo I em diferentes quantidades, nos cortes B e C, logo abaixo do tipo I, a formação do colágeno tipo III 61

LISTA DE TABELAS

- TABELA 5.1. Valores médios encontrados, após análise histológica quantitativa, das diferentes estruturas nos períodos experimentais..... 62
- TABELA 5.2. Resultados da análise estatística apresentados nas comparações entre os diferentes grupos frente a presença de diferentes estruturas encontradas, valendo-se do teste de Kruskal-Wallis, estabelecendo como significância a diferença de 5% ($\alpha=0,05$), representado pelo X 63

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 5.1. - estruturas presentes aos três dias de observação histológica para os grupos controle e submetidos aos dois tratamentos – adição de iodofórmio e hidróxido de cálcio	64
GRÁFICO 5.2. - estruturas presentes aos cinco dias de observação histológica para os grupos controle e submetidos aos dois tratamentos – adição de iodofórmio e hidróxido de cálcio	65
GRÁFICO 5.3. - estruturas presentes aos onze dias de observação histológica para os grupos controle e submetidos aos dois tratamentos – adição de iodofórmio e hidróxido de cálcio	66
GRÁFICO 5.4. Distribuição da presença de fibras colágenas em função dos períodos experimentais	67
GRÁFICO 5.5. Distribuição da presença de fibroblastos em função dos períodos experimentais	67
GRÁFICO 5.6. Distribuição da presença de macrófagos em função dos períodos experimentais	68
GRÁFICO 5.7. Distribuição da presença de neutrófilos em função dos períodos experimentais	68
GRÁFICO 5.8. Distribuição da presença de linfócitos em função dos períodos experimentais	68
GRÁFICO 5.9. Distribuição da presença de vasos em função dos períodos experimentais	69
GRÁFICO 5.10. Distribuição da presença de outras estruturas em função dos períodos experimentais.....	69

SUMÁRIO

p.

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1. Contaminação do Sistema de Canais Radiculares	19
2.1.1. Papel das Bactérias no desenvolvimento de Lesões Periapicais	19
2.1.2. Infecção da região periapical	21
2.2. A Resposta do Hospedeiro – Inflamação Aguda ou Inespecífica, e Crônica ou Específica	24
2.3. Medicações Intracanaís	26
2.3.1. Iodofórmio	27
2.3.1. Hidróxido de Cálcio	34
2.4. Metodologia Empregada para avaliação da Ação Biológica	41
2.4.1. Dorso de ratos	42
2.4.2. Cultura de Células	44
3 PROPOSIÇÃO	46
4 MATERIAL E MÉTODOS	47
4.1. Material	47
4.1.1. Anestesia	47

4.1.2. Incisão, divulsão e sutura dos tecidos manipulados do animal	47
4.1.3. Medicação utilizada	48
4.1.4. Processamento Histológico	48
4.2. Metodologia Experimental	48
4.2.1. Grupos Experimentais	48
4.2.2. Coleta de Material	50
4.2.3. Inclusão e Microtomia em parafina – colorações	50
4.3. Metodologia de Avaliação	51
4.3.1. Análise Estatística	52
5 RESULTADOS	54
5.1. Análise Macroscópica	54
5.2. Análise Microscópica	56
5.2.1. Qualitativa	56
5.2.2. Quantitativa	62
5.2.2.1 Três dias de observação	63
5.2.2.1 Cinco dias de observação	64
5.2.2.1 Onze dias de observação	66
5.2.2.4. Análise da presença de estruturas ao longo dos períodos experimentais ..	67
6 DISCUSSÃO	70
7 CONCLUSÕES	84
REFERÊNCIAS	86
APÊNDICES	91
ANEXOS	96

1 INTRODUÇÃO

Dentre as inúmeras indicações do tratamento endodôntico, as principais respondem pela presença de um quadro inflamatório pulpar, ou uma contaminação do sistema de canais radiculares. Uma vez povoado por microorganismos, seus subprodutos tornam-se fontes constantes de agressão que demandará, por parte do hospedeiro uma alteração no tecido da região periapical que se traduz pela formação de lesões.

Este processo, desenvolvido como resposta, é composto por uma série de reações inflamatórias e passa por duas fases propriamente ditas: aguda e crônica, uma destrutiva e a outra proliferativa respectivamente, sendo ambas caracterizadas por células específicas. Na região apical, as lesões agudas são identificadas como pericementites e abscessos agudos; granulomas, cistos e abscessos crônicos, no caso das crônicas. A contaminação pode se localizar na porção apical sob a forma de biofilme, que compreende um grupo de diferentes microorganismos unidos por um polissacarídeo que se aderem às reentrâncias do cimento apical podendo, em função das condições ali presentes, estabelecer um ecossistema.

Desta forma, para que se possa restabelecer o equilíbrio perdido, torna-se imprescindível a remoção destes microorganismos e seus subprodutos, permitindo assim que o processo inflamatório possa progredir até o reparo. A sua vez, devem ser criadas condições desfavoráveis a um novo povoamento bacteriano, observando

diferentes fatores no que se refere a estas colônias ali presentes. Desta forma, a utilização de uma droga que auxilie nestes quesitos torna-se imprescindível para o sucesso do tratamento, agindo em complementação ao preparo químico-cirúrgico, onde podemos salientar o hidróxido de cálcio e o iodofórmio.

Comparando a atividade destas duas drogas, eles possuem uma ação clínica semelhante, comprovada em laboratório no tratamento de lesões induzidas em cães e ratos (DANIEL, 2001, GOMES, 2003), com um alto índice de sucesso. Em relação á ação antibacteriana já pôde ser verificada uma ação semelhante para estas duas drogas, exceção feita á condição de anaerobiose, onde o iodofórmio foi mais eficiente necessitando, contudo de um contato para que as mesmas tenham ação efetiva (PALLOTTA, 2001; BREDER, 2003). Devido à necessidade de contato, torna-se importante avaliar a citotoxicidade celular destes, a qual demonstra ser maior para o iodofórmio quando aplicado sobre cultura de fibroblastos 3T3 (DANIEL; JAEGER; MACHADO, 1999). Clinicamente, outrossim, esta condição parece distinta, haja vista que o hidróxido de cálcio, quando extravasado e colocado em contato direto com a contaminação do biofilme, denota um índice de pós-operatório mais acentuado (DE MOOR; DE WITTE, 2002), o que não é observado quando da utilização do iodofórmio (PALLOTTA, 2002)

Para que este fato possa ser melhor esclarecido devem ser levada em conta as interações teciduais e assim buscar uma resposta apropriada. Desta forma a utilização da implantação destas medicações em dorso de ratos - cujo tecido conjuntivo guarda bastante semelhança com o humano – pode tornar possível um maior esclarecimento acerca do comportamento destes medicamentos, na busca por respostas acerca da qualidade clínica da resposta inflamatória.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Contaminação do Sistema de Canais Radiculares

Um grande número de microorganismos já foi identificado em condutos radiculares e em lesões periapicais. As bactérias isoladas variam muito com relação às suas exigências metabólicas - fermentação de determinados açúcares em maior ou menor quantidade - e também no que se refere à necessidade ou não de oxigênio - aeróbios, anaeróbios estritos ou facultativos, e microaerófilos. Torna-se, desta maneira, indispensável o conhecimento do papel desta contaminação e suas características.

2.1.1. Papel das Bactérias no desenvolvimento de Lesões Periapicais

Para avaliar se microorganismos conhecidos (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacteroides fragilis*) em culturas puras inoculadas em canais radiculares poderiam causar inflamação periapical, Allard et al. (1979) utilizaram 14 cachorros que eram pulpectomizados e, em seguida, uma das espécies bacterianas era inoculada. Os dentes permaneciam selados, em tomavam-se amostras bacteriológicas em períodos constantes de 4 a 120 dias. Cepas vivas foram encontradas durante todo o procedimento.

Radiograficamente puderam ser observadas áreas de radiolusência na maioria das raízes e, quando isso não ocorria, a cultura revelava-se negativa.

Fabricius et al., em 1982, propuseram-se a estudar a distribuição das diferentes espécies bacterianas em amostras de canais radiculares infectados após exposição intencional da polpa, comparando a presença dos diferentes tipos de microorganismos nos diferentes períodos de observação, bem como avaliar a quantidade de duas espécies microbianas no canal principal com aquelas na porção apical do sistema de canais. Foram então abertos 8 dentes anteriores de 3 macacas. Após 1060 dias de avaliação, pode ser constatada a predominância de bactérias anaeróbias estritas (de 85 a 98% das cepas) para todos os grupos, sendo tanto maior quanto mais antiga a lesão.

Em 1992, Sundquist realizou um estudo que elucidou alguns mecanismos de manutenção da flora endodôntica e suas inter-relações. O autor postula que uma série de fatores restringe a flora bacteriana do canal radicular a um grupo seletivo de microorganismos; as alterações da população ocorrem com o passar do tempo e, em decorrência das condições propiciadas pelo meio, ocorre o aumento de anaeróbios estritos e a diminuição de aeróbios. A necessidade nutricional das bactérias é também um fator determinante na determinação do estabelecimento da infecção. E, com base nessas constatações, o autor afirma que a ação do tratamento endodôntico pode se dar tanto pela eliminação das bactérias quanto provocando o desequilíbrio da cadeia que existe entre as espécies predominantes e seus nutrientes.

Em uma revisão de literatura publicada em 1994, Sundquist apresenta a taxonomia, a ecologia e a patogenicidade da flora dos canais radiculares. O autor relata que as condições apresentadas pelos condutos são favoráveis ao crescimento

de bactérias anaeróbias - capazes de fermentar aminoácidos e peptídeos, que são predominantes em um ambiente de necrose - em detrimento das bactérias restantes - que normalmente obtêm energia de carboidratos -, restringindo a flora não só pela condição da presença de oxigênio, mas também pelo tipo de nutriente. Durante o desenrolar da infecção ocorre uma interação ligada principalmente às necessidades nutricionais, que determinam o tipo de bactéria que ali persistirá.

O papel dos microorganismos no estabelecimento e no desenvolvimento das infecções endodônticas foi avaliado por Seltzer e Farber (1994). Os autores compararam as alterações da microbiota da cárie - desde o esmalte até a polpa -, bem como os fatores que levam ao comprometimento da região periapical, e constataram que os principais microorganismos presentes são os bacilos gram-negativos anaeróbios, sendo também encontradas espiroquetas.

2.1.2. Infecção da região periapical

Em estudo da flora endodôntica e periapical de dentes humanos com a utilização de microscopia óptica e de fase, Ramachandran Nair (1987) selecionaram 31 lesões - 30 granulomas e 1 cisto -, e constataram a presença de bactéria em todos os condutos. A flora do endodonto separava-se da lesão por uma intensa rede de polimorfonucleares, ou por um plug de epitélio no forame. Cinco dos dentes estudados demonstraram a presença de bactéria dentro e fora do conduto.

Tronstad et al. (1987) examinaram 8 pacientes com lesões periapicais inflamatórias assintomáticas - refratárias ao tratamento endodôntico em decorrência da presença de infecções endodônticas extrarradiculares. Os autores realizavam a cirurgia periapical, colhiam amostras do exsudato, do bloco da lesão e do ápice. Nos

casos em que foi possível realizar o retratamento, também material do interior do conduto era colhido. No que se refere ao tipo de microorganismo encontrado, os autores observaram duas lesões exclusivamente contaminadas por anaeróbios, cinco com predominância desses microorganismos, e uma onde os estreptococos representaram 60% das bactérias presentes. Com relação ao número de espécies, observou-se um caso de monocultura e os outros 7 que manifestaram 3 a 6 espécies diferentes. O estudo demonstrou claramente que bactérias anaeróbias são capazes de sobreviver e manter uma doença infecciosa nos tecidos periapicais.

Utilizando microscopia eletrônica e óptica, Ramachandran Nair et al. (1990) investigaram a presença de bactérias na porção apical de canais radiculares e no periápice de dentes que, após terem sido tratados endodonticamente, evidenciaram lesões periapicais após um período de 4 a 10 anos. Foram realizadas 9 biópsias de lesões com esse perfil onde seis revelaram a presença de microorganismos. Quando não havia a presença de bactérias, as biópsias revelaram que as lesões eram reações de granuloma com células gigantes de corpo estranho.

Em estudo realizado através de microscopia eletrônica de varredura, procurou-se avaliar a presença de microorganismos na superfície de raízes de dentes com lesões periapicais refratárias ao tratamento endodôntico que foram submetidos a apicetomias. Microorganismos puderam ser observados em todos os espécies que aparentemente se apresentavam sem cobertura de cimento. As bactérias organizavam-se em colônias, recobertas por material amorfo. Na superfície das raízes era possível visualizar um tecido fino recobrindo a região; essa superfície, nos diversos casos encontrava-se em estágio de degradação. Também foi possível observar as bactérias unidas por um material extracelular - que caracterizou a

presença do biofilme nas reentrâncias da superfície radicular (TRONSTAD; BARNETT; CERVONE 1990).

Em outro estudo, Tronstad, Kreshtool e Barnett (1990) descreveram o monitoramento microbiológico de um granuloma infectado que foi submetido ao tratamento endodôntico convencional, à antibioticoterapia sistêmica e ao tratamento cirúrgico. O tratamento endodôntico convencional não obteve sucesso, enquanto a terapia antibiótica via sistêmica apenas alterava a flora, sem contudo pôr fim à infecção, que só pôde ser debelada através de apicetomia – tratamento cirúrgico –, seguida de subsequente neoformação óssea após 6 meses.

Para destacar o papel da infecção periapical no fracasso da terapia endodôntica, Siqueira (1997) consultou a literatura existente sobre o assunto observando que, se no início admitia-se a existência de lesões isentas de microorganismos, estudos mais recentes lançaram essa teoria por terra. Conclui o autor que o tipo e a quantidade de contaminação são mais importantes para o sucesso da terapia que o tipo de patologia desenvolvida.

Em 1998, Siqueira e Lopes realizaram um trabalho cujo objetivo era definir e explicar a estrutura do biofilme perirradicular, descrevendo sua estrutura, sua implicação no insucesso da terapia endodôntica, e as estratégias de tratamento. Sua *estrutura básica advém de bactérias que estão aderidas à superfície apical e que são revestidas por uma matriz de lipopolissacarídios. A aproximação e a adesão microbiana a um substrato orgânico ou inorgânico leva as bactérias a se proliferarem; assim o biofilme atinge a maturidade, e as colônias organizam-se de acordo com as condições ambientais. A presença desse biofilme parece ser responsável por 15 a 100% dos casos de insucessos endodônticos.*

A presença do biofilme periapical também foi avaliada, por meio de microscopia eletrônica de varredura, de pontas de raízes e de cones de guta-percha removidas durante procedimentos cirúrgicos ou tratamentos endodônticos de dentes portadores de lesões periapicais crônicas. Em nove dos 11 casos tratados foi encontrado o biofilme sobre a superfície estudada relatando a periodontite apical refratária (NOIRI et al., em 2002).

Buscando verificar a presença de biofilme periapical em dentes com necessidade de tratamento endodôntico, Leonardo et al (2002) avaliaram, através da microscopia eletrônica de varredura, a região apical de dentes que possuíam polpa vital e necrosada, neste caso com e sem a presença de lesão periapical. Os autores puderam observar o biofilme como uma constante somente em casos de dentes com lesão.

2.2. A Resposta do Hospedeiro – Inflamação Aguda ou Inespecífica, e Crônica ou Específica

Um resumo dos mecanismos imunológicos de defesa da polpa, mostrando o como os agentes antigênicos envolvem a resposta pulpar - as células e os componentes químicos envolvidos - foi realizado por Jontell et al, em 1998. Estes autores discutem, em especial, o papel das células dendríticas pulpares que, apesar de não serem capazes de identificar estes agentes, são fundamentais na ativação dos linfócitos T que levarão ao desenvolvimento e interação de outras células do sistema.

Oliveira, em 1999, descrevem as fases do reparo e suas características. A primeira fase, denominada de reação inflamatória, é caracterizada por breve

vasoconstricção, seguida de vasodilatação e diminuição do fluxo sanguíneo, marginação leucocitária e diapedese, migrando os leucócitos – neutrófilos e posteriormente linfócitos - para a região da lesão. A segunda fase denominada reepitelização é caracterizada por hiperplasia e hipertrofia das células deste tecido e migração sobre o conjuntivo subjacente também destas células, folículos pilosos e outros anexos. A fase posterior, angiogênese, caracteriza-se por neoformação vascular, necessária para a oxigenação e nutrição da ferida, bem como drenagem dos catabólitos ali presentes, determinando a formação de miofibroblastos, característicos de um tecido de granulação. A fase de proliferação fibroblástica, o tecido de granulação tem como principais componentes celulares os fibroblastos, que produzem matriz celular, colágeno e glicosaminas que atuam na remodelação de tecido normal e no processo de reparação. Por fim a contração da ferida, que é a quinta e última fase do reparo, caracteriza-se por uma diminuição dos vasos neoformados e de elementos celulares, com substituição do colágeno tipo III por tipo I, com contração progressiva da ferida.

O papel do sistema imunológico no desenvolvimento da periodontite apical, a partir do estabelecimento do processo infeccioso e a conseqüente determinação da lesão periapical devido à contaminação dos canais radiculares, foi discutido por Marton e Kiss, em 2000. Como resposta o organismo promove uma reação inflamatória que pode ser aguda ou crônica em função das condições e propriedades do microorganismo e do hospedeiro. Na lesão crônica são identificadas as células – linfócitos polimorfonucleares, linfócitos T – CD4 e CD8 -, B e NK, plasmócitos e macrófagos, além dos componentes químicos (citocinas que agem nas interações entre as células do sistema de defesa). Ainda são apresentados os efeitos locais e remotos dos agentes e mediadores da inflamação, demonstrando

que suas interações são a chave para o entendimento do processo e sua quebra ou alteração será fundamental para encerrar este.

2.3. Medicamentos Intracanaís

Abbott (1990) demonstra a importância dos medicamentos no sucesso da Endodontia, afirmando que é imprescindível a utilização de uma medicação complementar ao preparo para obter a limpeza adequada do sistema de canais radiculares. São propriedades fundamentais da droga a ser escolhida a ação bactericida, antiinflamatória bem como estimular a formação de tecidos duros sem ser tóxico ao hospedeiro. A escolha do material deve levar em conta as condições patológicas do dente a ser tratado

Para avaliar o papel da medicação intracanal na terapia endodôntica, Chong e Pittford realizaram um estudo, publicado em 1992. Inicialmente, os autores constatarem que o tipo de resposta inflamatória depende diretamente da quantidade, do tipo e do tempo de exposição dos tecidos aos microorganismos e postulam que, na ausência de agentes contaminantes, os tecidos periapicais podem ser reparados. Deste modo, a realização de um tratamento de dentes vitais não implica o emprego de medicações intracanaís. Já em dentes infectados, a utilização de medicações tem por objetivos: 1) eliminar as bactérias que porventura possam ali permanecer após a instrumentação; 2) reduzir a inflamação dos tecidos periapicais e remanescentes pulpares; 3) neutralizar os restos orgânicos que possam estar ali presentes; 4) agir como barreira à permeabilidade apical; 5) auxiliar a secar canais persistentemente úmidos. Para esses autores, a prescrição de medicações deve ser feita em casos de

contaminação intensa e/ou em casos cujo intervalo de tempo entre as sessões seja grande.

2.3.1. Iodofórmio

O iodofórmio, segundo a FDA (Food and Drug Administration), afirma que o iodofórmio pode ser utilizado para uso tópico e intra-dental. Apesar de ser positivo para testes de mutagenicidade in vitro, estudos conduzidos pelo programa nacional de toxicologia dos EUA (NTP-FDA) demonstraram, após acompanhamento de dois anos que o mesmo não é carcinogênico em ratos e camundongos. Nas doses apresentadas na literatura, o iodofórmio apresenta-se como não-tóxico e reações adversas ao seu uso não são constantemente relatadas.

Juge, em 1959, avalia a utilização de pastas reabsorvíveis para a obturação de canais, afirmando que as mesmas não deveriam interferir no processo natural de cura. Sua indicação deveria estar restrita aos casos em que os condutos apresentavam-se infectados, com ou sem lesão periapical, em que havia o risco de extravasamento de material obturador pelo periápice, nesse sentido, o autor concordou apenas com a indicação das pastas iodoformadas e de hidróxido de cálcio. Como propriedades do iodofórmio, o autor afirmou que, segundo Walkhoff, ele não é irritante, é reabsorvível, paralisa secreções, tem ação anti-séptica de longa duração até ser reabsorvido e é bem tolerado pelos tecidos periapicais, produzindo fechamento fisiológico do ápice. O hidróxido de cálcio, por sua vez, seria mais útil para obturação após pulpectomia ou pulpotomia.

Maisto e Eurasquin (1965) analisaram o comportamento dos tecidos periapicais frente a algumas pastas reabsorvíveis à base de iodofórmio. Avaliaram,

para isso, o tratamento endodôntico de 60 ratos que foram divididos em grupos obturados com três pastas reabsorvíveis: a) pasta lentamente reabsorvível de Maisto - 14g de óxido de zinco, 42g de iodofórmio, 2g de timol, 3cc de clorofenol canforado, 0,50g de lanolina; b) pasta rapidamente reabsorvível de Maisto - clorofenol canforado e glicerina em partes iguais; c) pasta rapidamente reabsorvível de iodofórmio e hidróxido de cálcio - em proporções iguais em uma solução aquosa. Os autores observaram que as pastas utilizadas ativam a resposta inflamatória, e que, quando da ocorrência de extravasamento, o material é facilmente reabsorvido. Em dentes jovens foi obtido um selamento completo do conduto; já em dentes de ratos mais velhos houve simplesmente uma diminuição de sua luz. A reação às pastas não apresentou diferenças significativas; a reabsorção do cimento apical não parece ter relação direta com a sua utilização.

Maisto (1975) relatou que as pastas anti-sépticas à base de iodofórmio e clorofenol canforado-mentol ou glicerina são rapidamente reabsorvíveis na zona periapical. O iodofórmio é acentuadamente radiopaco, volatiliza-se lentamente em contato com o ar e à temperatura ambiente, porém de forma mais rápida quando a 37°C. Além disso, agregado a outros anti-sépticos é perfeitamente tolerado no periápice, ainda que em grandes sobreobturações. Seu valor como anti-séptico é relativo, mas são bem conhecidas as reparações de extensas lesões periapicais posteriormente à sua aplicação. O iodofórmio libera iodo em estado nascente ao entrar em contato com o tecido periapical, estimula a formação de novo tecido de granulação, o que contribui para a posterior reparação óssea. Ele atua em melhores condições privado de oxigênio e em meio alcalino. Sua ação depende da quantidade e concentração das drogas assim como da sua velocidade de reabsorção.

Valendo-se de dentes permanentes de seis cachorros sem o ápice completamente formado, Vojinovic e Sрниé (1975) avaliaram a resposta histológica dos tecidos periapicais - e subsequente formação destes tecidos - frente a duas pastas utilizadas como materiais obturadores: a) iodofórmio e Chlumsky (I-C) - 30g de fenol, 30g de cânfora e 110g álcool absoluto; b) hidróxido de cálcio. Foram extirpadas, de cada animal, as polpas de dois pré-molares vizinhos – e cada um deles foi preenchido com uma das pastas. Os cachorros, divididos em dois grupos, foram sacrificados após 2 meses (grupo 1) e após 7 meses e meio (grupo 2) para observação histológica. Radiograficamente os grupos não apresentaram grandes diferenças porém, histologicamente, a pasta I-C, no grupo sacrificado após dois meses, apresentou uma inflamação crônica em continuidade com o periodonto, e a presença de tecidos mineralizados que formavam uma barreira menor que a formada pelo hidróxido de cálcio. Após 7 meses e meio (grupo 2), ambos os tratamentos levaram à formação de um tecido mineralizado na região apical.

Castagnola (1976) verificou o papel da pasta iodoformada de Walkhoff na terapia endodôntica. Duas das preparações originais de Walkhoff mereceram destaque: a) a solução de clorofenol-cânfora-mentol e b) pasta de iodofórmio – pastas Kri. Estas manipulações possuem como propriedades a estimulação da formação de tecido de granulação, diminuição da secreção, radiopacidade, facilidade de manipulação, podendo controlar sua consistência, além do fato de ser facilmente removível e reabsorvível. Suas contra-indicações, referem-se ao fato das mesmas serem reabsorvidas do interior do canal, bem como o seu não endurecimento - o que não permite um selamento adequado -, o gosto desagradável e o fato de poder desenvolver alergias. Sua indicação corresponde aos casos de extirpação da polpa, tratamento de abscessos, podendo ser utilizado como

medicação entre as sessões ou na obturação, onde ao cimento é acrescida uma pequena quantidade de. Ainda estão indicadas estas pastas, como preenchimento da fístula artificial em pacientes jovens, tratamento preparatório para apicetomia e tratamento preparatório para implante endodôntico.

Semeraro e Magalhães (1978) referem-se às vantagens de se utilizar o iodofórmio em Endodontia, pois este apresenta condições propícias à liberação do iodo contido na pasta: o canal não tem luminosidade; a temperatura do corpo oferece condições para sua decomposição; há exsudatos derivados de matérias necróticas com as quais o iodofórmio entra em contato, liberando iodo; esse iodo penetrará nos túbulos dentinários, mesmo quando associado em pasta, desde que se utilizem veículos com baixa tensão superficial. Assim, esse anti-séptico pode ser utilizado tanto em polpas vivas quanto em polpas necrosadas, e é indicado em casos de lesões mais severas.

Michel, em 1984, estudou a reação de subcutâneo de camundongos submetidos a ação da pasta obturadora de condutos radiculares de dentes decíduos proposta por Guedes-Pinto. Após o implante no dorso do animal, os mesmos eram sacrificados após 24 horas, três, sete, 14, 28 e 90 dias. Até os três dias verifica-se a presença de edema e infiltrado inflamatório agudo; aos sete dias, o material está envolto em uma cápsula conjuntiva com a presença de macrófagos, infiltrado mononuclear e raros polimorfonucleares; aos 28 dias, o material é encontrado fagocitado por macrófagos e aos 90 dias os tecidos exibem características de normalidade.

Para analisar clinicamente uma alteração da pasta de Walkhoff em tratamento da necrose pulpar, Rocca et al. (1985) analisaram 59 pacientes com diferentes patologias (granulomas, abscessos crônicos e agudos e cistos). Os

dentes foram instrumentados e obturados com uma pasta modificada pelo acréscimo de 1,00g de prata na composição. Para a avaliação do sucesso, foram observadas a mobilidade dental - que diminuiu significativamente - e a dor pós-operatória - que apresentou 10% de ocorrências. Radiograficamente, todos os casos mostraram reparação após seis meses de observação, à exceção dos cistos.

Foi realizada uma avaliação da resposta histopatológica pulpar de ratos a uma pasta - composta por Iodofórmio, Rifocort® e Paramonoclorofenol canforado (PMCC) em partes iguais - comparada ao formocresol. Após períodos de 3 e 7 dias, as duas pastas apresentavam condições semelhantes de inflamação aguda com a atração de macrófagos para a região imediatamente inferior da cavidade pulpar em contato com a pasta. Após 14 dias a área de necrose foi mantida ou aumentada para o formocresol enquanto a pasta apresentava a polpa com características de normalidade inclusive com a formação de ponte de dentina. Em 28 dias o formocresol ampliou sua área de degeneração enquanto a pasta estimulou a formação de ponta de dentina sobre um tecido pulpar normal. (CHEDID, em 1988)

Manisali, Yücel e Erisen (1989) descrevem um caso onde houve o extravasamento da obturação com uma pasta iodoformada do canal de um segundo pré-molar inferior esquerdo. O extravasamento não se limitou à região periapical, mas foi até a região do segundo molar. Pode ser verificado que não houve alteração alguma na região nem sintomatologia dolorosa por parte do paciente, sendo a pasta rapidamente reabsorvida.

Para verificar se havia uma interação entre o iodofórmio e a endotoxina bacteriana, Fernandes (1997) adotou o teste de coagulação do lisado de amebócitos do artrópodo *Limulus polyphemus* (teste LAL), a ressonância magnética nuclear de prótons e a análise espectrofotométrica. Com base nos resultados obtidos, o autor

concluiu que possivelmente existe uma interação química entre o iodofórmio e a endotoxina bacteriana, e que essa alteração deve ocorrer na sua porção polissacarídica.

Foi realizado um estudo para comparar, *in vitro*, a citotoxicidade do iodofórmio e do hidróxido de cálcio - associados a dois veículos diferentes: carbowax e PEG 400 - frente a fibroblastos NIH 3T3. O iodofórmio revelou ser citotóxico tanto na reação celular imediata, como também nos experimentos de sobrevivência celular a longo prazo, sendo menos agressiva quando associada ao Carbowax. Já o hidróxido de cálcio mostrou ser não citotóxico independente do veículo e do experimento ora avaliado. (DANIEL, 1998).

Em 1999, Daniel, Jaeger e Machado. realizaram de uma revisão da literatura sobre a utilização do iodofórmio como medicação intracanal. Seu emprego em Endodontia é limitado por possuir odor penetrante e desagradável, além de poder promover alteração cromática da coroa dental e reações adversas em pacientes sensíveis. Sua capacidade anti-séptica parece estar relacionada à maior liberação de iodo em estado nascente quando em contato com secreções ou áreas infectadas. Como características positivas dessa droga os autores arrolam a radiopacidade, o grau de penetração nos tecidos periapicais, a analgesia que promove, a diminuição da secreção de feridas, a facilidade de reabsorção e a propriedade de estimulação biológica. Salientam-se seu poder irritante, a tolerância tecidual e a ação estimulante da formação de tecido de granulação cicatricial e toxicidade. As propriedades irritantes do iodofórmio estimulam a proliferação celular, produzindo reação inflamatória inicial com necrose tecidual, o que atrai células de defesa para a região e leva à formação de um tecido de granulação e neoformação óssea, favorecendo o reparo da lesão.

Pallotta, em 2001, avaliou a ação antibacteriana de quatro medicações de uso endodôntico pelo método da diluição em caldo. As medicações avaliadas foram o Iodofórmio, o Hidróxido de Cálcio e duas associações, o CFC - 25% de Ciprofloxacina, 25% Metronidazol e 50% Hidróxido de cálcio – e o IKI – 2% Iodo, 4% Iodeto de potássio - sobre o *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacteroides fragilis*. O experimento consistia na incubação em tubos de ensaio de uma associação entre bactérias e meio de cultura na qual deveria ser acrescentada a medicação em dez diferentes concentrações. Após o período de incubação, o crescimento deveria ser avaliado pela turbidez do tubo, comparando com a escala de MacFarland. Com exceção do IKI sobre o *Pseudomonas aeruginosa*, todos os medicamentos apresentaram ação sobre as bactérias estudadas. Outra observação diz respeito ao aumento da ação de todas as drogas a medida que as mesmas possuíam suas concentrações aumentadas.

O processo de reparo de lesões periapicais foi avaliado por Daniel, em 2001, através de análises radiográfica e microscópica após o emprego de medicação intracanal em molares de ratos nos quais foi induzida lesão periapical. Depois de abertos e instrumentados, os canais foram medicados com iodofórmio (com Carbowax®), hidróxido de cálcio (com polietilenoglicol 400) e CFC (com PRP). Os animais foram sacrificados após 7, 15 e 30 dias e as peças analisadas radiográfica e microscopicamente. Os resultados mostram a formação de lesões periapicais após os períodos experimentais e que todas as substâncias utilizadas neste estudo contribuíram para a diminuição da lesão periapical. No final de 30 dias, não houve diferença estatisticamente significativa entre as medicações testadas, no tocante a frequência de lesão periapical, intensidade do infiltrado inflamatório e processo de reparo.

Os procedimentos para o tratamento de dentes portadores de lesão endodôntica a base de iodofórmio são descritos por Pallotta, em 2002. O autor descreve o *modus faciendi* da medicação por meio de sua inserção e pela realização de trocas constantes até que se tenham sinais clínicos de que a lesão esteja diminuindo radiograficamente e os sinais e sintomas tenham desaparecido.

A atividade antibacteriana do Iodofórmio e do Hidróxido de Cálcio associados à dentina foi comparada por Breder (2003). Raízes extraídas de molares superiores necrosados e com lesão periapical eram trituradas e misturadas às medicações testadas. Também foram obtidas bactérias de biofilmes dentais. Pelo método da difusão em ágar, foi observado que ambas as drogas possuíam atividade antibacteriana semelhante e que esta propriedade não sofreu ação inibitória da dentina.

Gomes, em 2003, valendo-se de dentes de cães, avaliaram a resposta tecidual após tratamento endodôntico em dentes portadores de lesões induzidas, realizados em sessão única ou com curativos de demora a base de iodofórmio e hidróxido de cálcio, estes que permaneciam por 15 dias. Os tratamentos eram analisados histologicamente após 30 e 90 dias. Pode ser observado comportamento semelhante nos grupos tratados com curativo de demora com inflamação branda e freqüente visualização de neoformação óssea e cementária, ao passo que no grupo dos dentes tratados em sessão única, foi encontrado infiltrado inflamatório severo, sem indícios de processo de reparação.

2.3.1. Hidróxido de Cálcio

O hidróxido de cálcio é um pó branco, pouco solúvel em água e de pH bastante elevado. É obtido quimicamente pela hidratação do óxido de cálcio – que, por sua vez, deriva da calcinação do carbonato de cálcio. Seu mecanismo de ação depende diretamente da liberação de íons cálcio (Ca^{++}) e hidroxila (OH^-), que ocorre mediante o contato entre a droga e os tecidos (SIQUEIRA; LOPES, 1999; FAVA; SAUNDERS, 1999).

Heithersay, em 1975, demonstrou os efeitos da utilização do hidróxido de cálcio no tratamento de dentes despulpados com patologias. Clinicamente ele está indicado como medicação intracanal, tanto temporária como por longos períodos, no controle das reabsorções radiculares, defeitos de reparação internos e externos, perfurações, fraturas transversas, sendo ainda possível a indução da formação apical de dentes despulpados. Seus principais mecanismos de ação, segundo o autor, dizem respeito à sua alcalinidade, em contrapartida às inflamações que são ácidas e às bactérias que raramente resistem a pH superiores a 9,5. Uma outra hipótese de mecanismo de ação desta droga é relativa à presença de cálcio que pode levar à diminuição da permeabilidade de vasos que estão presentes em granulomas, além de poder agir na síntese de colágeno, cuja formação da matriz é dependente de enzimas que também dependem de cálcio.

A ação clínica do hidróxido de cálcio utilizado como medicação intracanal em 78 casos de dentes não vitais foi o objetivo do trabalho realizado por Vernieks e Messer (1978). Para tanto foram selecionados 64 pacientes, dos quais 75 dentes apresentavam lesão periapical. A avaliação do sucesso era clínica e radiográfica. Foi obtida uma diminuição da lesão em 75 casos (em 55 o completo desaparecimento) e outros 3 que não apresentam solução (2 apicetomia e 1 exodontia). Um outro fator a

ser considerado foi a necessidade de um maior tempo para reparar a lesão em lesões mais extensas e em dentes multirradiculares.

Com o objetivo de desenvolver um método de deflagrar a infecção dentinária - e assim avaliar a ação de medicações intracanaís -, Haapasalo e Ørstravik (1987) valeram-se de dentes bovinos. Os dentes eram desgastados e recortados para formar um cilindro padrão, submetidos a um tratamento para remoção do *smear-layer* e, posteriormente, esterilizados. Esses corpos de prova eram transportados para um caldo nutriente com *E.faecalis*. Após 3 semanas, os canais eram vedados externamente, e seu interior era preenchido com a medicação escolhida - Calasept ou o PMCC. A extração das amostras bacterianas era realizada com brocas esféricas de tamanhos progressivamente maiores, e também com a coloração de Brown e Brenn para a verificação de sua infiltração. Os autores observaram que o PMCC eliminou o *E.faecalis*, mesmo em grandes profundidades, enquanto o Calasept não eliminou o microorganismo de forma adequada nem sequer superficialmente.

Foreman e Barnes, em 1990, realizaram uma revisão a respeito do hidróxido de cálcio. Como principais propriedades bioquímicas desta droga, puderam ser notadas: (a) iniciação da mineralização; (b) mineralização induzida por ele; (c) formação de ponte de dentina; (d) capacidade de destruição bacteriana; (e) dissolução de tecido necrótico. Todos esses mecanismos de ação dependem diretamente do pH desta droga. O hidróxido de cálcio, como medicação intracanal, é utilizado sob a forma de pó acrescido ou não de um líquido, este que pode ser inerte, ou com ação específica. O $\text{Ca}(\text{OH})_2$ é de grande valia na apicigênese e na apicificação, auxiliando na prevenção e tratamento da reabsorção radicular, ainda no reparo de perfurações de furca e de fraturas horizontais.

Foi realizado um estudo para avaliar se há alguma alteração no lipopolissacarídeo (LPS) da membrana bacteriana após o tratamento com hidróxido de cálcio, medido pela produção de Prostaglandina E2 (PGE2). Foram utilizados dois grupos: um era tratado com o hidróxido de cálcio em cultura de células de monócitos; o outro não recebia tratamento; ambos eram monitorados para detecção da presença da PGE2. Verificou-se a presença dessa linfocina somente nas células do grupo não tratado (SAFAVI; NICHOLS, 1994).

Kontakiotis, Nakou e Georgopoulou (1995) realizaram um estudo, *in vitro*, para avaliar o mecanismo de ação do hidróxido de cálcio. Para a realização do estudo, os autores selecionaram quarenta microorganismos de isolados clínicos - 20 anaeróbios estritos e 20 facultativos. Após identificados, esses microorganismos eram diluídos (até 10^6 da amostra inicial) e inoculados em dois meios: 1) ágar-sangue - grupo controle; 2) ágar-sangue misturado a uma pasta de hidróxido de cálcio em um veículo, na proporção de 6:4. As placas eram colocadas em estufa por 72 horas de forma anaeróbia; transcorrido esse período, verificava-se o número de colônias formadas. O grupo tratado apresentou redução do número de cepas, o que indica que a ação do pH no meio é importante para diminuir o desenvolvimento das bactérias.

Barbosa et al., em 1997, compararam a ação bactericida do hidróxido de cálcio, gluconato de Clorexidine e PMCC *in vitro*. Após a seleção de dentes com polpas necrosadas e presença radiográfica de lesão periapical, os mesmos eram abertos, instrumentados e medicados com PMCC numa primeira sessão. Na segunda sessão, realizava-se uma amostra microbiológica dos condutos sendo os dentes preenchidos com uma das medicações. O canal deveria ser obturado a medida que a cultura do seu interior fosse negativa. Um outro experimento foi

realizado pelo teste de difusão em Agar dos medicamentos contra microorganismos anaeróbios e facultativos. Culturas negativas foram obtidas em 69,2% dos casos na segunda sessão; e, na sessão seguinte, 73,3% no caso do hidróxido de cálcio e 77,8% nos casos de Clorexidine. Na difusão em ágar, o Clorexidine apresentou ação contra todas as cepas, sem, contudo ser mais eficaz que o PMCC. O hidróxido de cálcio só apresentou atividade antibacteriana contra o *A. naeslundii* e o *A. israelii*.

Os mecanismos de ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio e suas limitações têm sido objeto de estudos. Os principais mecanismos de eliminação das bactérias por essa droga são a lise da membrana celular citoplasmática - que, por meio da peroxidação lipídica destrói os fosfolipídios da membrana -; a desnaturação de proteínas - as enzimas bacterianas possuem um pH ótimo de ação, e a presença do Ca(OH)_2 , que é bastante alcalino, pode bloquear essa ação; a ação direta dos íons hidroxila - que agem como oxidantes de radicais livres - sobre as proteínas estruturais; os danos que o Ca(OH)_2 provoca no DNA - seja demembrando-o por ação direta, seja pela ação de radicais livres, que impedem ou alteram sua replicação - obstruindo, desta forma o desenvolvimento normal da célula (SIQUEIRA; LOPES, 1999).

Fava e Saunders, em 1999, realizaram uma revisão das pastas de hidróxido de cálcio no que se refere ao tipo de veículo utilizado, estabelecendo uma classificação e as respectivas indicações clínicas. A utilização de diferentes veículos nos leva a algumas alterações das propriedades, especialmente no que se refere à velocidade e concentração da liberação de íons, como também seu poder antibacteriano. Os aquosos possuem como características uma liberação rápida de íons, sendo indicados no capeamento pulpar, tratamento de dentes sem vitalidade, apicigênese e apicificação, pulpotomias de decíduos e permanentes, como

medicação temporária em polpas vitais e ainda nos casos de reabsorção inflamatória interna. Os veículos viscosos e oleosos mostram liberação de íons mais lenta, porém mais duradoura, estas pastas devem ser indicadas em casos de reabsorções interna e externa, bem como no tratamento das periodontites apicais, com forte ação antibacteriana.

Haapasalo et al. (2000) avaliaram a inibição que a dentina provoca na atividade antibacteriana de alguns medicamentos. Foram testados o hidróxido de cálcio em solução saturada, o hipoclorito de sódio a 1% e a 0,5%, a clorexidina a 0,05% e o IKI na proporção de 2/4%. A dentina utilizada foi autoclavada e reduzida a pó; uma parte dela era incubada com os medicamentos em tubos testes a 37°C por 24 horas ou 1 hora antes da adição da bactéria *Enterococcus faecalis*. Os resultados apontaram que o pó de dentina tem ação inibitória sobre todos os medicamentos. Ele inibiu por completo a ação do hidróxido de cálcio, e parcialmente a do IKI, inibindo muito pouco a ação dos demais.

Através do método proposto por Haapasalo e Ørstavik, em 1987, foi avaliada, in vitro, a ação do hidróxido de cálcio com a adição de cobre ou IKI para desinfetar túbulos dentinários. Trinta e seis cilindros de dentina bovina eram infectados com *E. Faecalis* e divididos em quatro grupos, um somente com hidróxido de cálcio veiculado em água destilada, outro em que era acrescido o pó do IKI, um terceiro grupo que era preparado com cobre e um quarto controle sem medição. Os melhores resultados foram obtidos com a adição de cobre, não importando a profundidade da avaliação realizada, seguido do grupo em que foi adicionado o IKI e por fim o grupo só com a água destilada, este que praticamente não apresentou ação em profundidade superior a 300µm. (Fuss et al, 2002)

Com o objetivo de avaliar a hipótese do *E.faecalis* resistir a ação da medicação intracanal a base de hidróxido de cálcio, Distel, Hatton e Gillespie (2002) avaliaram, por meio de microscopia eletrônica de varredura e por meio do microscópio laser de varredura confocal a formação do biofilme periapical. Puderam observar, tanto no grupo medicado como no controle a formação deste biofilme valendo-se de dentes extraídos.

Gomes et al, em 2002, propuseram-se a investigar possíveis variações na suscetibilidade de diferentes microorganismos a associações do hidróxido de cálcio a diferentes veículos. A metodologia utilizada foi a difusão em ágar. Pôde ser observada uma maior ação, na média dos diferentes veículos, sobre *P.endodontalis*, *P.gingivalis*, *C.albicans*, *P.intermédia/ nigrescens*, *P.denticola*, *S.aureus*, *S.sanguis*, *B.subtilis*, *S.mutans*, *S.sobrinus*, *A.naeslundii* e *E.faecalis*, respectivamente. Enquanto as associações que apresentaram maior ação em avaliação decrescente foram ao PMCC com glicerina, PMCC, glicerina, solução salina, água destilada estéril e polietilenoglicol.

Em 2002, Nelson Filho et al, propuseram-se a avaliar, por meio de radiografias, o efeito da endotoxina associado ou não ao hidróxido de cálcio em dentes de cães. Dos 60 pré-molares testados, pode ser verificada a presença de lesão nos grupos em que a endotoxina era introduzida no canal sem associação da medicação e também no grupo em que a lesão era induzida por inoculação bacteriana. Tanto no grupo controle – solução salina – como no grupo da associação medicação-endotoxina a lâmina dura apresentava-se íntegra, sendo assim, o LPS foi inativado pela medicação.

A cura de lesões apicais de dentes com culturas positivas e negativas de canal no momento da obturação, bem como de dentes tratados em uma visita e

duas com a utilização de medicação de hidróxido de cálcio entre elas foi o objetivo do trabalho realizado por Peters e Wesselink (2002). Dos 39 pacientes avaliados, dos quais 18 foram medicados, não puderam ser observadas diferenças entre os grupos estudados durante o acompanhamento por quatro anos e meio. O único caso que não obteve sucesso foi do grupo medicado.

De Moor e De Witte, 2002 relataram 11 casos de lesões periapicais em que uma grande quantidade de hidróxido de cálcio foi extravasada para o periápice e que, a despeito da não recomendação por parte da literatura pertinente, promoveram sucesso. Todavia, como efeito colateral houve um alto índice de inchaço pós-operatório que variou de moderado a intenso.

Em 2003, Haenni et al., propuseram-se a avaliar se havia alterações do pH da parede dentinária quando da associação de uma solução de hidróxido de cálcio ao IKI, clorexidine e soluções de hipoclorito, bem como a ação antimicrobiana destas associações sobre o *E.faecalis* pelo método da difusão em agar. Nenhuma alteração significativa do pH pode ser verificada, nem alteração em sua eficácia antimicrobiana.

2.4. Metodologia Empregada para avaliação da Ação Biológica

Hauman e Love, em 2003, realizaram uma revisão da literatura no que se refere às metodologias empregadas para a avaliação da biocompatibilidade de materiais utilizados na terapia endodôntica que podem, uma vez extravasados para a porção periapical, estabelecer uma comunicação com o tecido vivo. Entre as metodologias empregadas estão os testes de genotoxicidade, em que se incluem as culturas de células, as reações teciduais a microorganismos e o implante em dorso

de animais, em especial de ratos, além de sua aplicação em condições clínicas, primeiro em animais e posteriormente em humanos. Nesse mesmo estudo, o hidróxido de cálcio mostrou ser uma droga bastante inerte quando permanece dentro do canal, todavia, sua tolerância na região periapical demonstra resultados contraditórios, sendo bastante agressivo quando extravasado.

2.4.1. Dorso de ratos

O tecido cutâneo do rato é composto por uma epiderme fina e coberta de pelos. A derme é caracterizada por um grande conteúdo celular, em especial em ratos jovens, com fibras colágenas em disposição paralela às células epiteliais, cortadas por fibras elásticas. Sua camada basal apresenta vasos sanguíneos e elementos elásticos próximos a folículos pilosos e glândulas sebáceas. A hipoderme apresenta conteúdo moderado de tecido adiposo. (HEBEL; STROMBERG, 1976)

O comportamento do tecido conjuntivo o subcutâneo de rato quando submetidos a implante dos cimentos AH 26 e N-Rickert foi avaliado utilizando 18 animais (*Rattus norvegicus*), os quais foram sacrificados segundo o período de experimentação, de 0, 1, 3, 5, 7, 10, 16, 23 e 34 dias. O implante era injetado no subcutâneo dos animais, sendo duas amostras de cada cimento em cada animal. Segundo o período estipulado, o material deveria ser colhido e processado histologicamente, corado com H-E, tricrômico de Mallory e Alcian Blue + PAS. Pôde ser observado que o cimento AH-26 promove interna reação inflamatória duradoura além de ser reabsorvível o que não acontece com o N-Rickert, sendo este mais compatível. (GUARACIABA; FAVA DE MORAES, 1980).

Tubos de Teflon contendo diferentes materiais de uso endodôntico – Kloroperka, NØ, AH26 e Kerr Pulp Canal Sealer – foram implantados em dorso de ratos para testar a biocompatibilidade dos mesmos em estudo desenvolvido por Olsson, Sliwowski e Langeland, em 1981. Por meio de análise morfométrica pode ser observado que todos os materiais foram irritantes. A severidade variou conforme o grupo, podendo se afirmar que o método é eficaz para testar a biocompatibilidade apesar de não ser possível classificar a citotoxicidade em diferentes níveis a não ser que as mesmas sejam muito diferentes.

A reação tecidual do subcutâneo de ratos também foi objeto de estudo realizado por Safavi, Pascon e Langeland, em 1983. A avaliação mostrou necrose e inflamação continuada em todos os períodos experimentais quando injetados no subcutâneo para o AH26 e para o Hydron, quando avaliados qualitativa e quantitativamente nos diferentes períodos de avaliação.

Com o objetivo de (a) avaliar a resposta tecidual a cimentos endodônticos, bem como (b) padronizar uma metodologia, além de (c) correlacionar as respostas teciduais aos elementos liberados do material identificados por microanálise radiográfica, Ørstravik e Mjör, em 1988 implantaram tubos de polietileno preenchidos com um dos cimentos, no dorso do rato. Pode ser observado que esta metodologia é eficaz na qualificação da tolerância tecidual inclusive com diminuição em função do tempo de sua agressividade

Em 1988, Yesiloy et al, avaliaram a resposta histopatológica, inflamatória e de calcificação a cimentos obturadores endodônticos e um material a base de hidróxido de cálcio (Hypocal). Utilizaram 12 cobaias, em cujo dorso era colocado 0,1mL de cada um dos materiais a serem avaliados. Os animais foram sacrificados após seis, 15 e 80 dias, nos quais eram removidos os sítios, processados

histologicamente e corados com H-E e Von Kossa. Frente aos campos histológicos, era dado um score para os quadros inflamatórios representados de 0 a 5 em valor crescente. Após seis dias, o Sealapex e o Endo-Fill apresentavam um menor quadro de inflamação, que se manteve nos 15 dias, onde o Eucapercha também teve resultado semelhante, significativamente superiores aos demais. Por fim, no período de 80 dias todos apresentarem um grau baixo e semelhante de inflamação.

Em 1988, Zmener, Guglielmotti e Cabrini propuseram-se a avaliar o comportamento de dois cimentos a base de hidróxido de cálcio, através do implante de três tubos de silicone - um com cada cimento e um outro grupo controle - em 30 ratos Wistar. Passados os períodos experimentais, os tubos eram removidos em bloco, processados e avaliados histologicamente por meio da contagem de células inflamatórias. Após sete dias ambos os grupos apresentavam uma grande presença de macrófagos diferente do grupo controle. No CRCS pode ser ainda verificada a presença de LPMN, linfócitos e células gigantes junto aos tubos, além de uma proliferação de fibroblastos. Passados 30 dias o Sealapex manteve a resposta inflamatória aguda, enquanto a mesma diminuiu significativamente no CRCS, quadro este que se manteve após 90 dias.

2.4.2. Cultura de Células

A citotoxicidade de doze materiais de uso endodôntico em cultura de fibroblastos do ligamento periodontal – diretamente ou com a interposição de um cilindro de dentina – foi realizada por Meryon e Brook, em 1990. Pôde ser observada uma maior citotoxicidade para a Pasta Kri, Spad e Forfenan, seguidos do AH26 (com

também apresentaram citotoxicidade significativa que diminuiu com a colocação do cilindro de dentina.

Avaliar a citotoxicidade de diferentes cimentos de uso endodôntico submetidos ao calor, por meio do teste da quantificação de adesão e proliferação de fibroblastos gengivais foi o objetivo do trabalho realizado por Neff, Laymane Jeansonne, 2002. Valendo-se de sete cimentos diferentes, a saber: Roth 801, Roth 811, AH26, AH Plus, Kerr Pulp Canal Sealer, Sealapex e Dentalis, que eram submetidos a três temperaturas diferentes 23° C, 43° C e 100° C. Como resultados, os autores obtiveram que a temperatura altera a citotoxicidade dos cimentos, sendo, dos cimentos testados, o AHPlus, AH26 – resinosos – e o Sealapex – a base de hidróxido de cálcio – os menos agressivos.

Schwarze, Leyhausen e Gerutsen (2002), propuseram-se a avaliar, in vitro, a citotoxicidade de diferentes cimentos por um longo período de tempo. Valendo-se de raízes dentais que eram obturadas com um cone único e quantidades semelhantes de cimentos diferentes - AHPlus, Apexit, Endomethasone, Ketac-Endo, N2 e Roeko Seal – as quais eram mantidas em meio próprio, verificava-se, periodicamente, a sua ação sobre células de ligamento periodontal embrionárias e fibroblastos 3T3. Para ambas as células, o N2 foi o mais citotóxico, enquanto os demais não apresentaram efeito agressivo.

3 PROPOSIÇÃO

O presente estudo tem por objetivo avaliar quantitativa e qualitativamente as reações que o organismo desenvolve em relação a duas drogas utilizadas como medicação intracanal – iodofórmio e hidróxido de cálcio – a luz da microscopia óptica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

Para a realização deste estudo, foram selecionados vinte ratos albinos (*Rattus norvegicus*, var albino, linhagem Wistar), machos convencionais, pesando 300 ± 120 g, obtidos no Centro de Bioterismo da PUCCAMP. Durante o experimento, os ratos foram mantidos em caixas de acrílico com tampa de aço inoxidável, lavadas semanalmente e desinfetadas com álcool etílico a 90°. Os animais receberam água filtrada e ração para animais de laboratório esterilizada em autoclave *ad libitum*. A cama em maravalha também foi esterilizada e ciclos de luminosidade 12:12.

4.1.1. Anestesia

- Cloridrato de Cetamina (FRANCOTAR[®]) – Vibrac do Brasil indústria e Comércio Ltda.;
- Cloridrato de Xilazina (ROMPUN[®]) – Bayer do Brasil S/A;
- Seringas de insulina com divisão em décimos com 1mL – BD – Indústria Brasileira Ltda. SP.

4.1.2. Incisão, divulsão e sutura dos tecidos manipulados do Animal

- Agulha atraumática (Erwin Guth Ltda. – São Paulo – SP – Brasil);
- Bisturi (Erwin Guth Ltda. – São Paulo – SP – Brasil);
- Fio de algodão #50 preto;

- Lâminas de bisturi #15 (Embramac do Brasil Ltda.– Itapira – SP – Brasil);
- Máquina para depilar;
- Porta agulha (Erwin Guth Ltda. – São Paulo – SP – Brasil);
- Tesouras rombas, reta e curva (Erwin Guth Ltda. – São Paulo – SP – Brasil);

4.1.3. Medicação utilizada

- Iodofórmio (Fórmula & Ação Farmácia Magistral Ltda. – São Paulo - SP);
- Carbowax (Fórmula & Ação Farmácia Magistral Ltda. – São Paulo - SP);
- Hidróxido de Cálcio (Fórmula & Ação Farmácia Magistral Ltda. – São Paulo - SP);
- Polietilenoglicol (Fórmula & Ação Farmácia Magistral Ltda. – São Paulo - SP);

4.1.4. Processamento Histológico

- Álcool absoluto – etanol (Laboratório de patologia da PUCCAMP);
- Caixas de 100 lâminas (Laboratório de patologia da PUCCAMP);
- Corante Hematoxilina e Eosina (Laboratório de patologia da PUCCAMP);
- Corante tricrômico de Mason - Hematoxilina, Fucsina Ácida e Azul de Anilina e ácido fosfomolibdico (Laboratório de patologia da PUCCAMP);
- Lâmina de borda fosca (LAMEDID Comercial e Serviços LTDA – Barueri - SP)
- Lamínula 24 X 32 (LAMEDID Comercial e Serviços LTDA – Barueri - SP.)
- Parafina – HISTOCEC;

4.2. Metodologia Experimental

4.2.1. Grupos Experimentais

A avaliação realizada por meio do implante dos materiais em dorso de ratos é a mesma utilizada por Guaraciaba e Fava de Moraes, em 1980.

Os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais, sendo que para cada animal testado, foram utilizados dois sítios diferentes para a colocação da medicação, totalizando dezesseis espécies estudadas, mais duas espécies para cada um dos grupos controle.

I. Procedimento anestésico

Todos os animais foram anestesiados com a seguinte mistura:

- a) Cloridrato de Xilazina (ROMPUN[®]): na dosagem de 10mg/kg de peso;
- b) Cloridrato de Cetamina (KETAMINA[®]): na dosagem de 80mg/kg de peso;

Em condições práticas isso representou 1,6mL de KETOMIN[®] adicionado a 0,5mL de ROMPUN[®]. Do total da mistura (2,1mL), utilizar 0,21mL/100g peso. Essa mistura foi aplicada com seringa de insulina, por via intraperitoneal.

II. Procedimento Experimental

Após os procedimentos anestésicos e posterior tricotomia da região dorsal, os grupos foram divididos em:

- Grupo Controle (ou GCI), que será identificado por não ter marca alguma na orelha. Este grupo terá a pele íntegra, sem tratamento algum.
- Grupo operado (ou GCII), onde os animais deste grupo sofrerão 02 incisões, uma de cada lado na região dorsal, para exposição do tecido celular subcutâneo. Com o auxílio de uma pinça de ponta fina, o tecido subcutâneo será divulsionado até próximo a musculatura, sendo, em seguida a pele suturada com agulha e fio de algodão preto.
- Grupo operado com tratamento 1, identificado pelo furo na orelha esquerda (FOE). Este grupo passará pelo mesmo tratamento do grupo anterior, diferenciando-se pelo fato do mesmo ser colocado o hidróxido de cálcio associado

ao polietilenoglicol 1400 recém-preparado, na concentração clínica, no caminho aberto pela divulsão tecidual.

- Grupo operado com tratamento 2, identificado pelo furo na orelha direita e esquerda (FOD). O procedimento será o mesmo realizado no grupo FOE exceto que, a medicação usada nestes animais será o iodofórmio associado ao Carbowax®, também recém-preparado e na concentração clínica.

4.2.2. Coleta de Material

Passados três dias de pós-operatório, cinco animais dos grupos tratados e dois animais do grupo controle foram, novamente, anestesiados e deles removidas as feridas do lado direito. A pele foi novamente suturada e os fragmentos fixados em líquido de BOUIN (85mL de solução saturada de ácido pícrico, 15mL de formol e, 5mL de ácido Acético glacial, colocado no momento do uso). A fixação foi de, pelo menos 24 horas.

Novos fragmentos foram removidos após cinco e onze dias, num total de 15 por grupo experimental. Mais uma vez os fragmentos eram submetidos aos procedimentos para processamento histológico.

4.2.3. Inclusão e Microtomia em parafina – colorações

O material coletado e fixado em BOUIN foi destinado à inclusão e microtomia em parafina. Os cortes, com 3 μ m eram corados com Hematoxilina-Eosina (H-E) e Tricrômico de Mason (TM). Para cada um dos grupos foram

utilizadas cinco lâminas e, de cada uma delas, três campos serão submetidos a avaliação.

4.3. Metodologia de Avaliação

Em um primeiro momento o aspecto macroscópico da ferida foi avaliado, no que se refere à presença de necrose, exsudato, sendo os aspectos relevantes anotados. Posteriormente, os cortes foram avaliados microscopicamente de duas formas:

I. *Análise Qualitativa:* com auxílio de microscópio óptico, as lâminas com o material foram avaliadas quanto à presença de: crosta fibrino leucocitária, exsudato neutrofílico, edema intersticial, congestão vascular, infiltrado mononuclear (presença de macrófagos), proliferação fibroblástica, neoformação vascular e fibrose intersticial.

II. *Análise Quantitativa:* com o auxílio do microscópio óptico acoplado à câmara digital, fotos foram tiradas dos diversos campos e inseridas no computador, onde foram divididas com uma grade que contava com 100 pontos diferentes. As fotomicrografias foram tiradas no microscópio com a ocular de 10X e a objetiva de 40X. Foram contadas as estruturas presentes nos campos mais significativos e representativos dos diferentes grupos experimentais.

Nesta avaliação foram contadas, para cada um dos campos as estruturas mais representativas seguindo as seguintes divisões:

- a. células epiteliais;
- b. fibras colágenas;
- c. fibroblastos;

- d. macrófagos;
- e. neutrófilos;
- f. linfócitos;
- g. vasos; e
- h. outros (fibrócitos, espaço, etc...).

4.3.1. Análise Estatística

Os dados foram colocados em tabelas, seus valores individuais e suas médias foram analisados e comparados estatisticamente, adotando-se como grau de significância o nível de 5%. As comparações foram realizadas entre as diferentes estruturas para um mesmo período experimental. Assim, cada uma dessas comparações foi submetida a análise da distribuição dos dados e aderência a curva normal, verificando sua distribuição, sendo aplicado, em função desta distribuição, o teste estatístico de Kruskal-Wallis .

Campinas, 19 de maio de 2003

Protocolo 036/03

Prezado Senhor Raul Pallotta Filho,

Ref: "Análise da evolução do processo cicatricial frente a diferentes drogas, quando aplicadas em lesões induzidas no tecido subcutâneo de ratos albinos"

Acusamos o recebimento em 13.05 p.p. dos documentos em que se respondem as pendências do projeto de pesquisa como segue:

Projeto: "Análise da evolução do processo cicatricial frente a diferentes drogas, quando aplicadas em lesões induzidas no tecido subcutâneo de ratos albinos"

Dessa forma, e considerando a Resolução no. 196/96 item VII.13.b, que *define as atribuições dos CEPs e classifica os pareceres emitidos aos projetos de pesquisa envolvendo seres humanos*, e, ainda que a documentação apresentada atende ao solicitado, emitiu-se o parecer para o presente projeto:

Aprovado

Recomenda-se:

Atualização das Referências Bibliográficas.

Sendo só o que nos cumpre informar, aproveitamos da oportunidade para renovar votos de estima e consideração.

Atenciosamente.



Prof. Dra. Maria Luiza Cruz
Coordenadora do C.E.P.S.H.A.S.P
PUC-Campinas

5 RESULTADOS

Para facilitar a compreensão, a apresentação dos resultados será realizada a partir dos diferentes métodos de avaliação, assim teremos: a avaliação macroscópica e microscópica, sendo esta última qualitativa e quantitativa.

5.1. Análise Macroscópica

Nesta análise, aos três dias, no grupo GCII pode ser visualizado um tecido aparentemente íntegro. O grupo FOD também apresenta um tecido semelhante (Fig 5.1-A). Já o FOE (Fig 5.1-B) mostra uma necrose superficial. Na avaliação seguinte, os grupos FOD (Fig 5.2-A) e GCII apresentam aspecto de normalidade e no FOE (Fig 5.2 – B) não é mais vista área de necrose, sendo agora visualizada uma grande área de edema. Aos 11 dias, o grupo FOD (Fig 5.3-A) mostrava a presença de iodofórmio em um tecido subcutâneo de aparência normal, o que não acontecia com o grupo FOE (Fig 5.3-B) que apresentou um edema grande em alguns animais e em outros uma área de necrose.

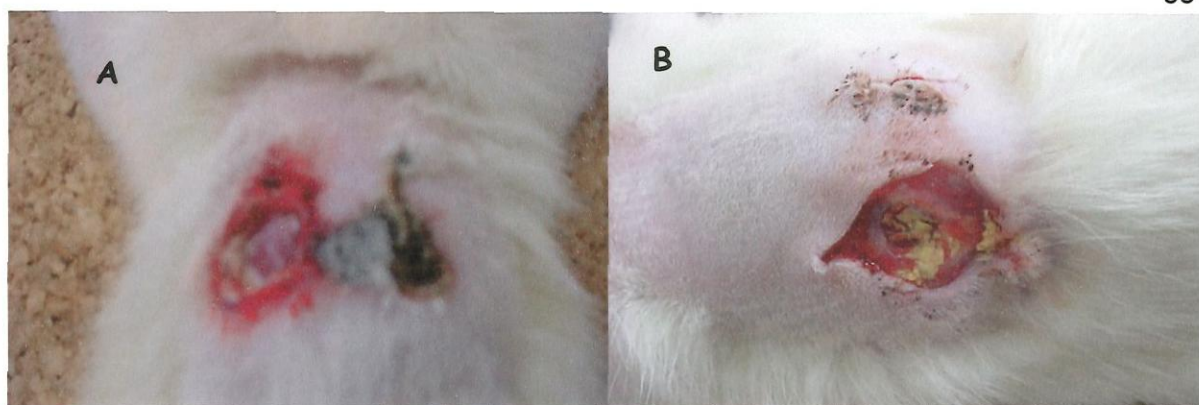


Fig 5.1. – Fotografia do dorso do rato após 3 dias de P.O. - observação macroscópica dos grupos FOE (A) e FOD (B) mostrando aparente normalidade do tecido no FOD e área de necrose no grupo FOE

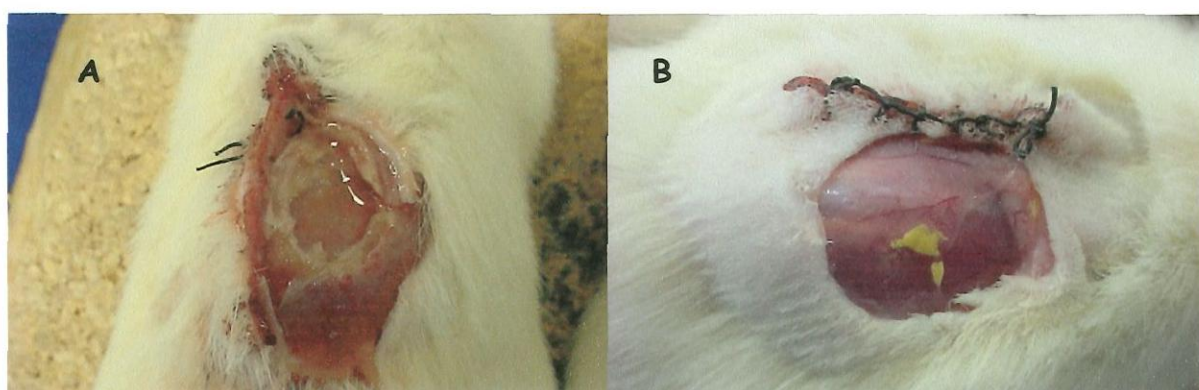


Fig 5.2. – Fotografia do dorso do rato após 5 dias de P.O. - observação macroscópica dos grupos FOE (A) e FOD (B), mostrando no grupo FOE a área de edema, e no grupo FOD a presença de iodofórmio circundada por um tecido aparentemente íntegro.



Fig 5.3. – Fotografia do dorso do rato após 11 dias de P.O. - observação macroscópica dos grupos FOE (A) e FOD (B) mostrando no grupo FOE a quantidade abundante de exsudato, e no grupo FOD, ainda a presença de iodofórmio circundada por um tecido aparentemente íntegro.

5.2. Análise Microscópica

5.2.1. Qualitativa

- Grupo Controle – 3 dias (Fig 5.4.–A)

Pode ser observada uma reepitelização da área incisada, embora nas áreas centrais podem ser observadas células achatadas em alguns cortes e em outros o epitélio apresenta um maior número de camadas celulares e menor quantidade de queratina. Ainda, algumas espécies exibiam a crosta de fibrina, o que não era constante. Na derme, observa-se, ao longo do corte, um infiltrado celular com predominância de macrófagos, embora nota-se também alguns fibroblastos e neutrófilos. No que diz respeito às fibras colágenas, na borda da incisão há uma pequena quantidade de colágeno tipo III e, imediatamente abaixo, colágeno tipo I. As células adiposas e os músculos apresentam aspecto de normalidade.

- Grupo Tratado com Hidróxido de Cálcio – 3 dias (Fig 5.4.–C)

Neste grupo pode ser observado o rompimento do epitélio sem sinal da reconstituição do mesmo. A derme apresenta uma grande área de necrose, que se estende aparentemente até a região muscular. Uma crosta de fibrina está presente com uma quantidade grande de células mortas. As células adiposas apresentam-se mais como espaços vazios. Junto à ferida, podem ser vistos alguns macrófagos e pouquíssimos no seu interior. As fibras colágenas que podem ser observadas são as do tipo I na base da ferida e alguns cordões no interior da mesma. Algumas fibras musculares estão em degeneração, com os mioblastos com seu núcleo deslocado.

- Grupo Tratado com Iodofórmio – 3 dias (Fig 5.4.–B)

Aos três dias de observação, este grupo apresenta o epitélio hiperplasiado e hipertrofiado, com um aumento do número de camadas nas bordas, separadas por fibrina. Na derme, uma área de necrose diminuta restrita à região da ferida, circundada por um pequeno infiltrado inflamatório com predominância de macrófagos e alguns outros fagócitos como células gigantes. Há uma perda parcial da camada de tecido adiposo na região, sem alteração, contudo, da camada muscular. As fibras colágenas que podem ser observadas são do tipo I ao redor de toda a ferida.

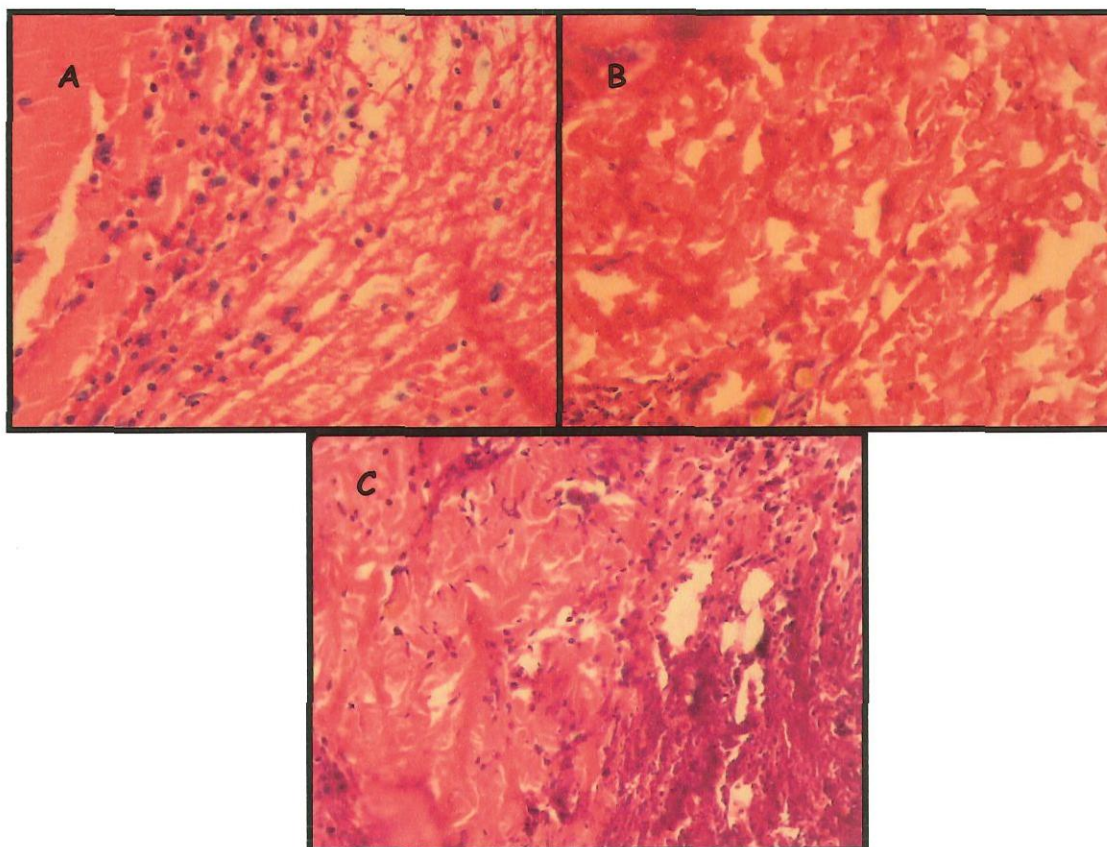


Fig 5.4. Fotomicrografia – tecido celular subcutâneo do rato aos 3 dias de P.O. – A controle – GCII; B – iodofórmio – FOD; C – hidróxido de cálcio – FOE. O corte A apresenta uma grande quantidade de células inflamatórias, fibras colágenas no FOD e a área de necrose no FOE

Fixação: Bouin

Coloração H.E.

Aumento : 550X

- Grupo Controle – 5 dias (Fig 5.5.–A)

A área de incisão está completamente reepitelizada, com número de camadas celulares similar às demais regiões, parecem estar totalmente renovado. Na derme, uma grande quantidade de plasma coagulado envolve por um infiltrado inflamatório com predominância de macrófagos e células gigantes esparsas logo abaixo do epitélio seguida por uma grande concentração de fibroblastos. No interior desta área, parece haver alguns neutrófilos. No que se refere às fibras, há uma pequena região de fibrina logo abaixo do epitélio, com colágeno tipo III ao redor e nas demais regiões colágeno tipo I abundante inclusive na base da ferida.

- Grupo Tratado com Hidróxido de Cálcio – 5 dias (Fig 5.5.–C)

Neste grupo o epitélio continua sem sinais de reparo, há uma grande área de necrose tanto na região epitelial quanto na derme. Na derme, pouco tecido vivo pode ser visualizado, somente uma grande quantidade de células gigantes e uma rede de fibrina na borda da lesão. Logo abaixo, no interior da camada muscular, podem ser observadas células de defesa em especial macrófagos, sendo que não há camada de gordura discernível na região da ferida. O colágeno presente é do tipo I e somente pode ser visualizado na base da ferida.

- Grupo Tratado com Iodofórmio – 5 dias (Fig 5.5.–B)

As bordas do epitélio, além de apresentarem células com aspecto mais achatado, dando a aparência de estarem deslizando, as mesmas parecem estar se multiplicando, com figuras de mitose, ainda que separadas por uma crosta de fibrina aparentemente menor que a encontrada em 3 dias.. Logo abaixo, na derme onde foi colocada a droga, verifica-se um grande

infiltrado inflamatório com muitos macrófagos, além da neovascularização, associados a uma destruição da camada adiposa ainda restrita ao local onde foi inserida a medicação. Fibras colágenas do tipo III podem ser visualizadas na base da lesão onde o infiltrado é menor, além de pequenas quantidades no interior do infiltrado.

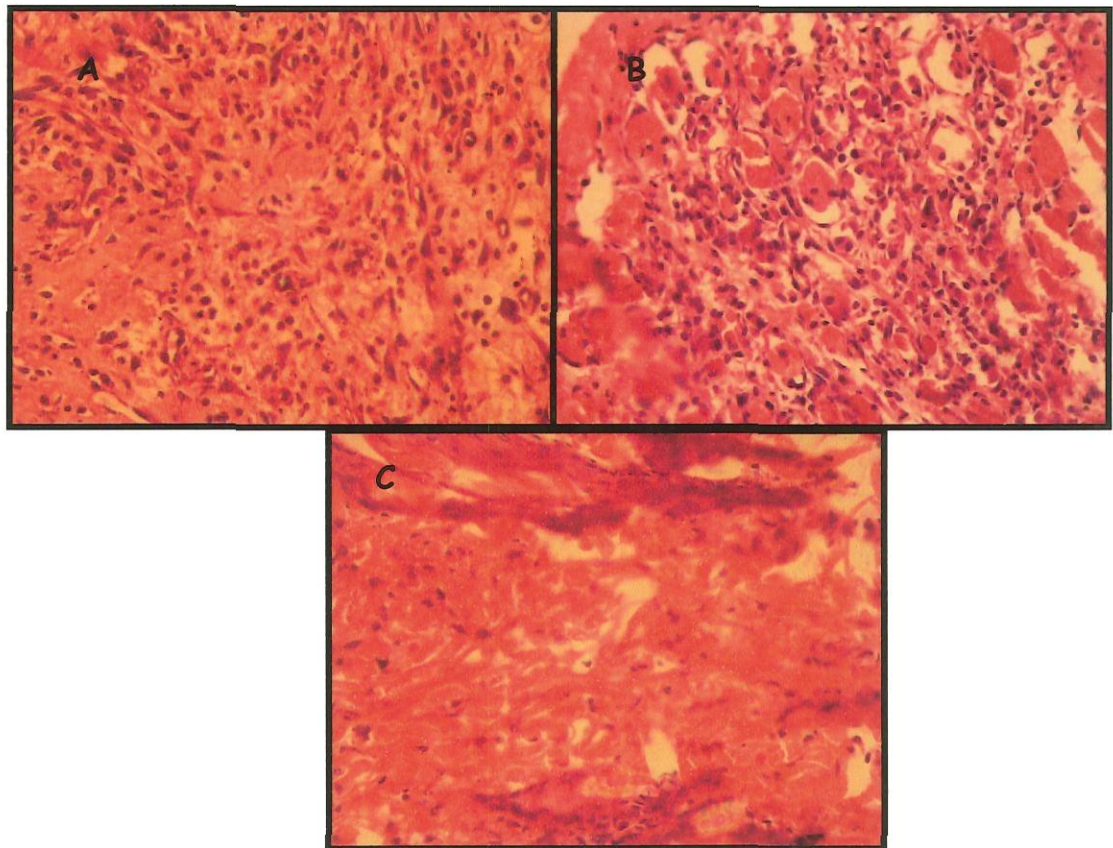


Fig 5.5. Fotomicrografia – tecido celular subcutâneo do rato aos 5 dias de P.O. – A controle – GCII; B – iodoformio – FOD; C – hidróxido de cálcio – FOE. O corte A apresenta uma grande quantidade de células inflamatórias, o grupo FOD com a neovascularização e presença de células inflamatórias e no FOD e a área de necrose no FOE, bem como o início da resposta inflamatória
Fixação: Bouin Coloração H.E. Aumento : 550X

- Grupo Controle – 11 dias (Fig 5.6.–A)

O tecido epitelial está íntegro, inclusive com a formação de queratina. Na derme, logo abaixo do epitélio na região da ferida, pode ser observado um pequeno infiltrado com fibroblastos em grande quantidade e alguns macrófagos e células gigantes. Nesta região pode ser observada a presença

adiposas se parecem com vacúolos. Fibras colágenas do tipo III podem ser observadas ao redor da lesão, bem como uma neovascularização abundante.

- Grupo Tratado com Iodofórmio – 11 dias (Fig 5.6.–B)

As observações histológicas neste grupo mostram um epitélio íntegro. Na derme, logo abaixo da ferida, um conjuntivo íntegro – com colágeno tipo I em abundância -, depois a ferida, circundada por colágeno tipo III, com grande quantidade de macrófagos e células gigantes circundando uma área de necrose. O tecido adiposo com características de normalidade, numa posição logo abaixo das fibras colágenas, e sobre a ferida. Em alguns cortes pode ser observada uma alteração cromática nos folículos pilosos.

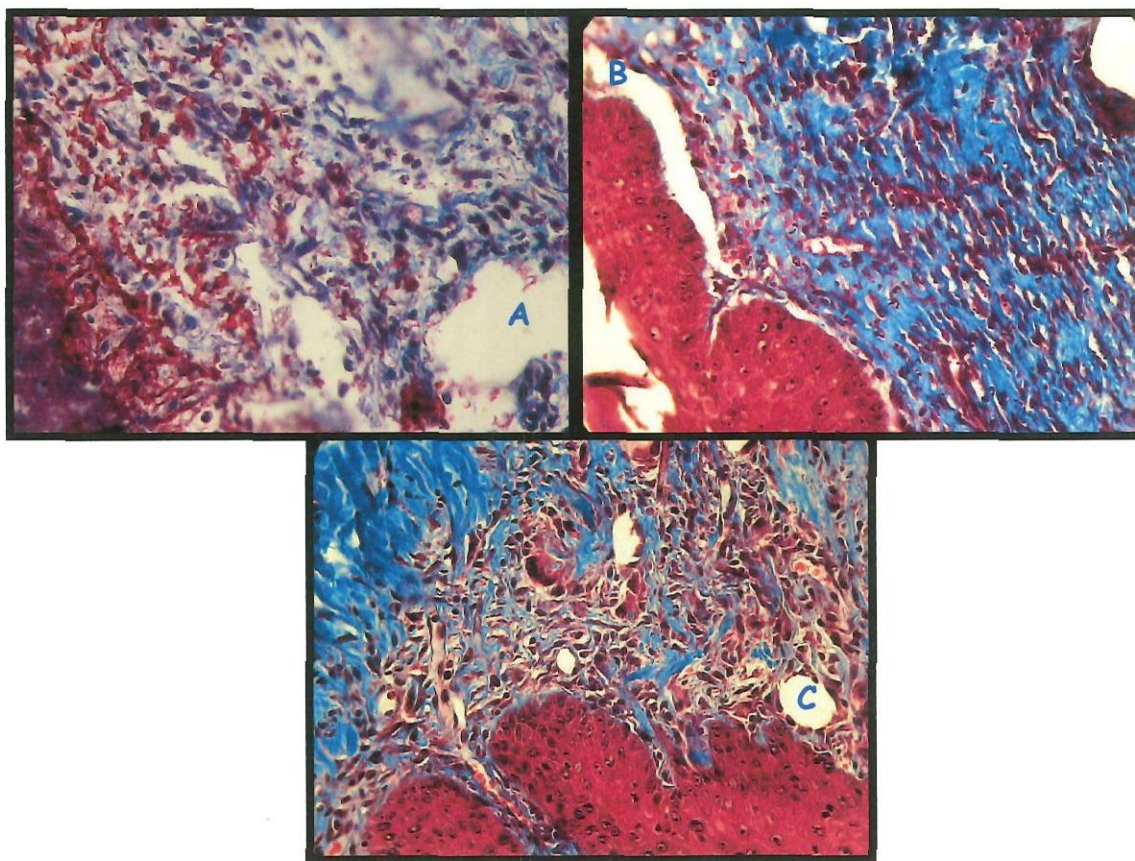


Fig 5.7. Fotomicrografia – tecido celular subcutâneo do rato – A controle – GCII; B – iodoformio – FOD; C – hidróxido de cálcio – FOE. Os cortes apresentam colágeno tipo I em diferentes quantidades, nos cortes B e C, logo abaixo do tipo I, a formação do colágeno tipo III.

Fixação: Bouin

Coloração Tricrômico de Mason.

Aumento : 550X

5.2.2. Quantitativa

Neste item estarão descritos os resultados obtidos através da contagem da presença nos campos das estruturas avaliadas, as quais serão apresentadas em duas tabelas para todos os períodos.

Na tabela 5.1. as médias dos valores encontrados serão colocados, enquanto na tabela 5.2. serão colocados, no sentido de facilitar a compreensão, as comparações estatísticas realizadas, as quais estão descritas de forma mais detalhada nos ANEXOS.

TABELA 5.1. Valores médios encontrados, após análise histológica quantitativa, das diferentes estruturas nos períodos experimentais.

Estrutura	Tecido Normal	3 dias			5 dias			11 dias		
		Controle	Iodoformio	Ca(OH) ₂	Controle	Iodoformio	Ca(OH) ₂	Controle	Iodoformio	Ca(OH) ₂
Células epiteliais	0,00	1,20	1,00	0,60	4,33	0,00	0,00	3,00	3,40	0,33
Fibras colágenas	45,00	26,20	46,60	5,60	37,67	1,00	6,50	22,40	7,00	1,83
Fibroblastos	34,25	12,40	18,40	41,20	22,00	25,00	39,00	25,20	41,80	39,33
Macrófagos	14,00	11,60	7,00	11,60	13,17	24,50	14,00	23,80	25,20	23,67
Neutrófilos	1,00	3,80	3,60	7,00	5,67	11,50	5,50	11,00	7,00	7,33
Linfócitos	0,00	11,60	2,80	0,00	6,00	13,50	2,00	11,00	6,40	3,50
Vasos	2,75	5,40	16,20	3,60	7,17	24,50	4,50	3,60	9,20	5,50
Outras estruturas*	3,00	27,80	5,00	30,40	5,33	1,00	28,00	0,00	0,00	18,50

* folículos pilosos, áreas de necrose, fibrina, espaços vazios

Como a distribuição dos dados, quando comparados entre si nos diferentes grupos foi não-normal, o teste utilizado foi o de Kruskal-Wallis, levando-se em conta a significância de 5% para se estabelecer uma diferença estatisticamente significativa.

TABELA 5.2. Resultados da análise estatística apresentados nas comparações entre os diferentes grupos frente a presença de diferentes estruturas encontradas, valendo-se do teste de Kruskal-Wallis, estabelecendo como significância a diferença de 5% ($\alpha=0,05$), representado pelo X

Estrutura	GCIX GCII			GCIX FOD			GCIX FOE			GCII X FOD			GCII X FOE			FOE X FOD		
Períodos (em dias)	3	5	11	3	5	11	3	5	11	3	5	11	3	5	11	3	5	11
Células epiteliais	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fibras colágenas	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	X
Fibroblastos	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	-	X	X	X	X	X	X	-
Macrófagos	-	-	X	X	-	X	-	-	X	X	X	-	-	-	-	X	-	-
Neutrófilos	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	-	X	X	X	-
Linfócitos	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Vasos	X	X	-	X	X	X	-	-	X	X	X	X	-	-	-	X	X	X
Outras estruturas	X	X	X	-	-	X	X	X	X	X	X	-	-	X	X	X	X	X

5.2.2.1. Três dias de observação

Passados três dias da intervenção, a análise quantitativa dos dados - apresentada nas Tabelas 5.1 e 5.2. e no Gráfico 5.1. - mostra que os grupos tratados apresentam uma diferença significativa tanto em relação ao grupo controle como em relação ao tecido normal como entre si, com exceção da presença de células epiteliais, as quais, para este estudo, não merecem grande destaque.

O grupo FOD apresenta uma grande presença de fibras colágenas e vasos. No que diz respeito às fibras colágenas, os valores encontrados somente são semelhantes ao tecido normal e estes são significativamente maiores que os demais, enquanto a presença de vasos é significativamente maior para o iodofórmio em relação aos demais grupos observados.

A sua vez, o grupo FOE apresenta uma quantidade significativamente maior de fibroblastos e neutrófilos em relação aos demais grupos, o que também ocorre em relação a presença de outras estruturas, sendo, neste caso, semelhantes ao grupo da ferida controle.

A presença de linfócitos para os grupos tratados é inferior ao grupo da ferida controle, e eles são diferentes entre si. Já no que diz respeito a macrófagos, eles são significativamente menos no grupo do iodofórmio e semelhantes para os demais.

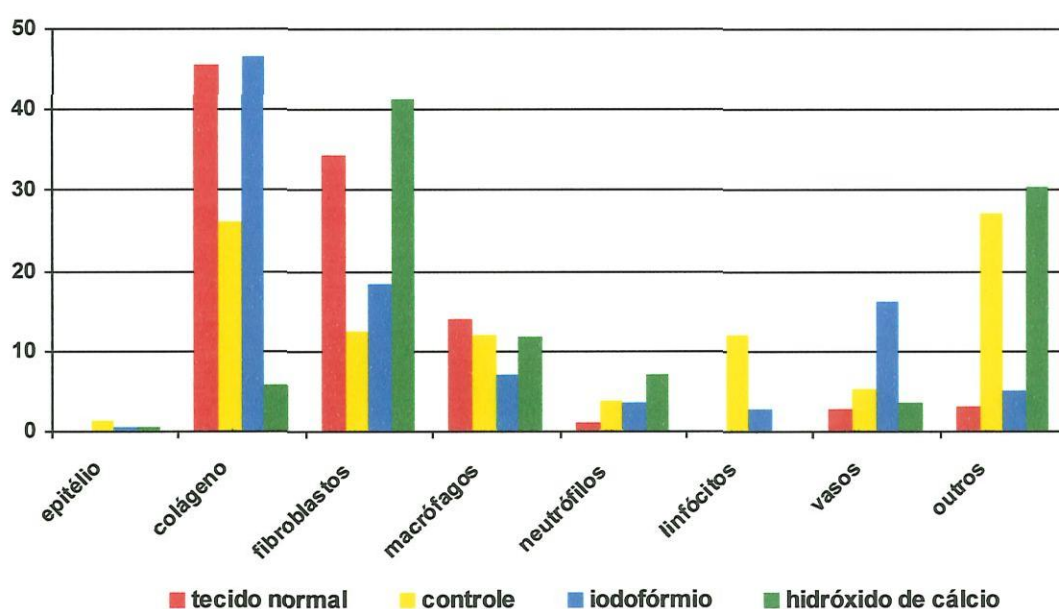


GRÁFICO 5.1. - estruturas presentes aos três dias de observação histológica para os grupos controle e submetidos aos dois tratamentos – adição de iodofórmio e hidróxido de cálcio

5.2.2.2. Cinco dias de observação.

Passados cinco dias da inserção da medicação, a análise histológica quantitativa (Tabelas 5.1. e 5.2. e Gráfico 5.2.) mostra que os grupos tratados apresentam grandes diferenças entre si. A presença de células epiteliais, mais uma vez não apresenta diferenças significativas entre os grupos avaliados.

O grupo tratado com o iodoformio apresenta uma maior quantidade de macrófagos, neutrófilos, linfócitos e vasos. Estes últimos três em uma quantidade significativamente maior em relação aos demais, enquanto os macrófagos somente maiores significativamente em relação ao outro grupo tratado.

Já o grupo tratado com o hidróxido de cálcio demonstrou uma maior presença de outras estruturas e de fibroblastos, sendo a primeira estrutura em quantidade significativamente maior que os demais e o outro semelhante ao tecido normal apesar de diferente dos demais.

Pode ainda ser salientado que os grupos tratados apresentam uma quantidade significativamente menor de fibras colágenas em relação aos grupos do tecido normal e da ferida controle.

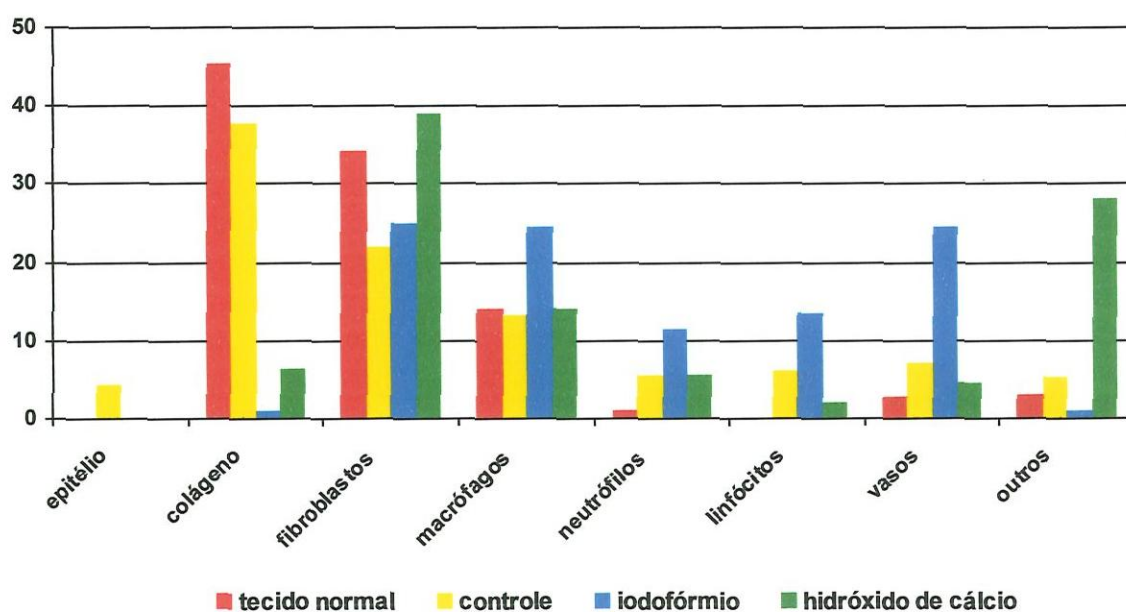


GRÁFICO 5.2. - estruturas presentes aos cinco dias de observação histológica para os grupos controle e submetidos aos dois tratamentos – adição de iodoformio e hidróxido de cálcio

5.2.2.3. Onze dias de observação.

Por fim, analisando a Tabelas 5.1. e 5.2. e o Gráfico 5.3., que mostra os dados quantitativos observados após onze dias de inserção da medicação, podemos notar que os grupos caminham para um processo de reparo. Mantém-se a presença bastante semelhante de células epiteliais para os grupos tratados e controle.

Os grupos tratados ora estudados mostram quantidades semelhantes também de macrófagos, fibroblastos e neutrófilos, nestes dois últimos, significativamente maiores que os grupos controle, tanto da ferida como do tecido normal, enquanto no que diz respeito aos macrófagos, eles apresentam-se similares à ferida controle e significativamente maiores que os do tecido normal.

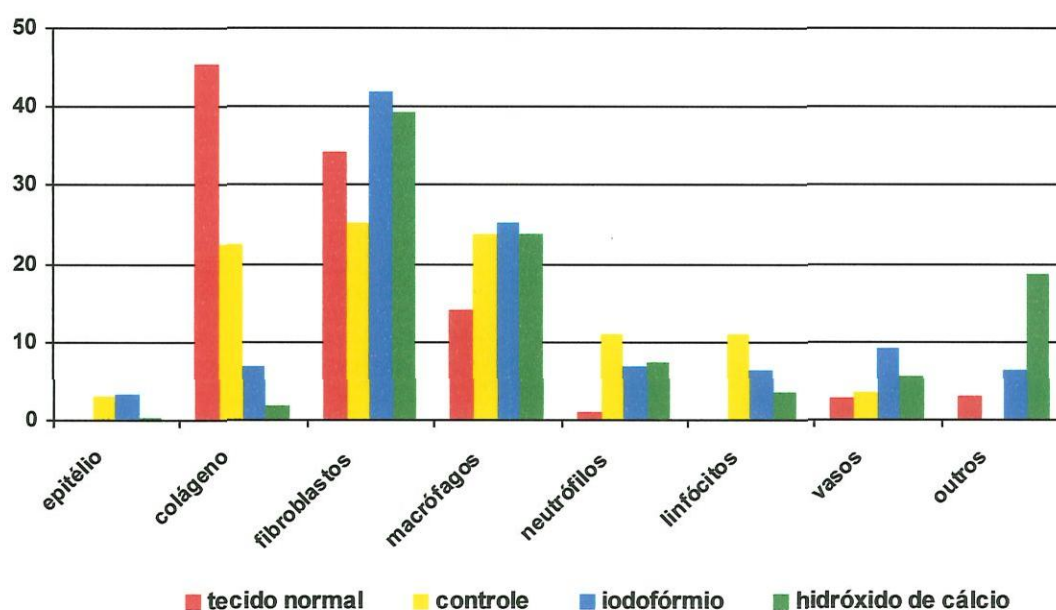


GRÁFICO 5.3. - estruturas presentes aos onze dias de observação histológica para os grupos controle e submetidos aos dois tratamentos – adição de iodofórmio e hidróxido de cálcio

No iodofórmio, ainda temos uma maior quantidade de vasos em relação aos demais grupos, e de linfócitos que no hidróxido de cálcio, ainda inferiores aos da ferida controle. O hidróxido de cálcio, a sua vez, é predominante na presença de

outras estruturas em relação a todos os grupos. Os grupos tratados, ainda, possuem significativamente menos fibras colágenas que os grupos controle.

5.2.2.4 – Análise da presença das estruturas ao longo dos períodos experimentais

A avaliação da presença destas estruturas tem como base os dados apresentados na tabela 5.1., assim o gráfico 5.4. representa a distribuição das fibras colágenas, o 5.5. a presença de fibroblastos, o 5.6., 5.7., 5.8., 5.9 e 5.10., de neutrófilos, linfócitos,, vasos e outras estruturas, respectivamente. As células epiteliais não foram ora avaliadas por não ser de interesse para o presente estudo.

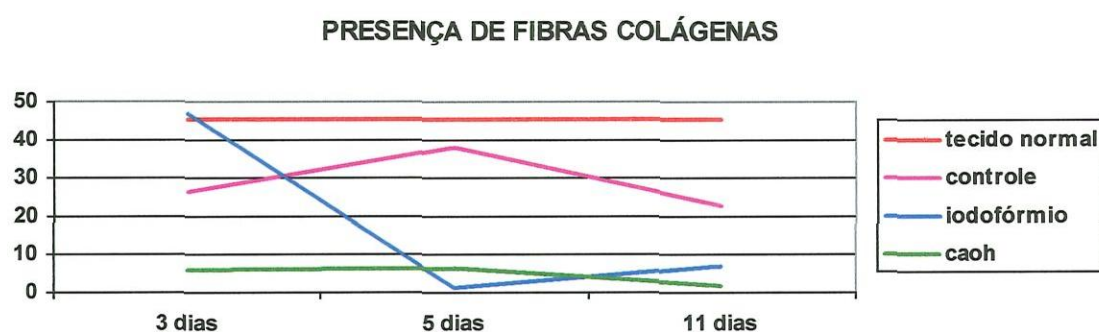


GRÁFICO 5.4. Distribuição da presença de fibras colágenas em função dos períodos experimentais

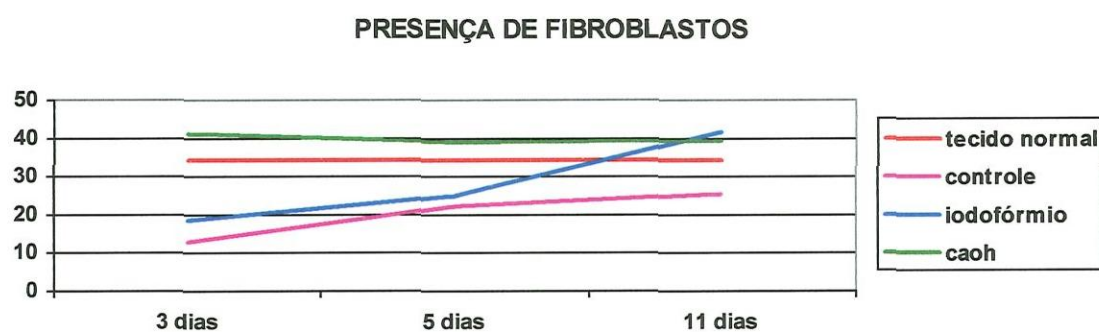


GRÁFICO 5.5. Distribuição da presença de fibroblastos em função dos períodos experimentais

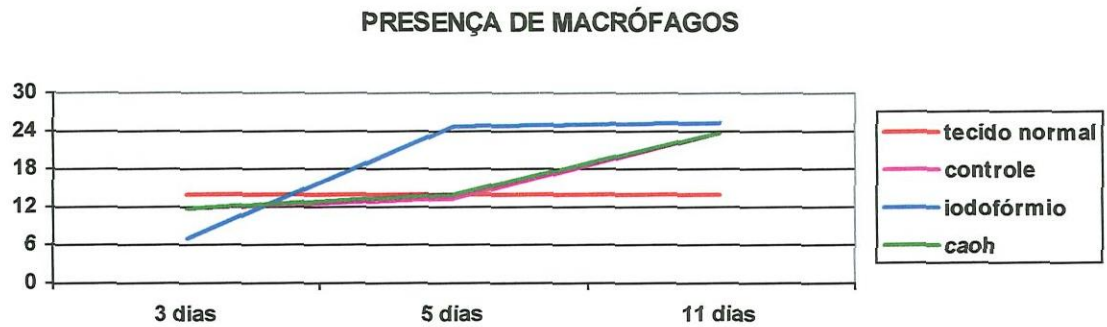


GRÁFICO 5.6. Distribuição da presença de macrófagos em função dos períodos experimentais

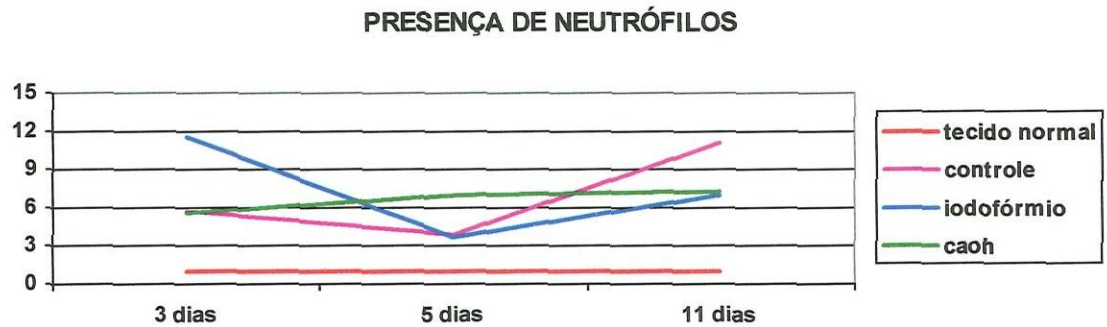


GRÁFICO 5.7. Distribuição da presença de neutrófilos em função dos períodos experimentais

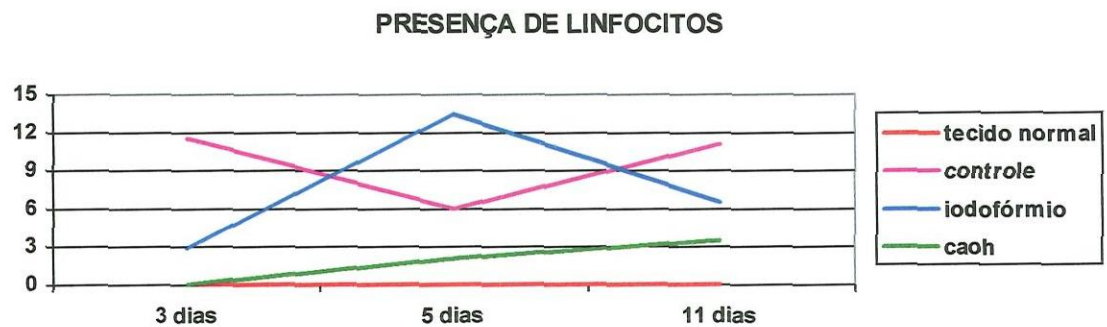


GRÁFICO 5.8. Distribuição da presença de linfócitos em função dos períodos experimentais

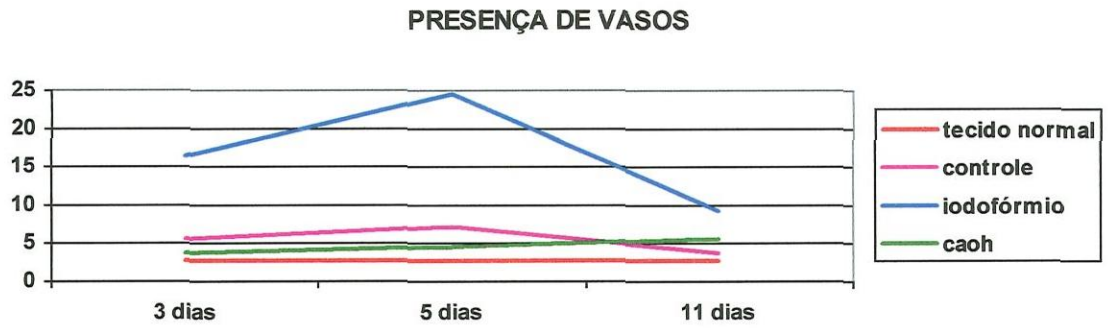


GRÁFICO 5.9. Distribuição da presença de vasos em função dos períodos experimentais



GRÁFICO 5.10. Distribuição da presença de outras estruturas em função dos períodos experimentais

6 DISCUSSÃO

As principais condições para que se indique a realização do tratamento endodôntico estão ligadas ao comprometimento da polpa dental, quer por meio de quadros inflamatórios ou infecciosos. Salientando esta segunda condição, estudos demonstram a contaminação desta região como sendo bastante complexa, por tratar-se de um ecossistema com características ímpares em função de sua localização. Essa região, uma vez contaminada apresenta uma pequena quantidade de oxigênio e a grande disponibilidade de proteínas (devido a presença de tecidos em decomposição), condições propícias ao desenvolvimento de bactérias anaeróbias estritas e facultativas (ALLARD et al., 1979;.FABRICIUS et al., 1982; SUNDQUIST, 1992; SUNDQUIST, 1994; SELTZER; FARBER, 1994).

A manutenção desta contaminação e seus subprodutos levam, associados ao sistema de defesa do hospedeiro, ao desenvolvimento de uma lise óssea na região apical – denominada lesão periapical, que pode ser aguda ou crônica em função principalmente do tipo de microorganismo envolvido e do sistema de defesa do hospedeiro (JONTELL et al., 1998; MARTON; KISS, 2000). Nesta lesão formada, os microorganismos podem se organizar de modo a formar, junto ao cimento, um biofilme periapical que, uma vez estabelecido, é de difícil tratamento em função da defesa inata de seus componentes e da dificuldade do organismo em combatê-la. (RAMACHANDRAN NAIR, 1987; TRONSTAD et. al., 1987;RAMACHANDRAN NAIR

et. al., 1990; TRONSTAD; BARNETT; CERVONE, 1990; TRONSTAD; KRESHTOOL; BARNETT, 1990; SIQUEIRA, 1997; SIQUEIRA; LOPES, 1998; DISTEL; HATTON; GILLESPIE, 2002; NOIRI et. al., 2002; LEONARDO et. al., 2002)

A intervenção endodôntica, nestas condições, deve ter como objetivos o estabelecimento da desinfecção e a limpeza deste sistema de canais radiculares. Grande parte desta condição é obtida durante a fase de preparo químico-cirúrgico, por meio da utilização de instrumentos de uso manual ou acionados a motor, coadjuvados por substâncias químicas auxiliares. Os instrumentos removem, por ação mecânica, os componentes do canal radicular na sua luz e na superfície dentinária, já as SQA, complementam este procedimento durante esta fase, nas áreas em que os instrumentos não conseguem agir como variações anatômicas e túbulos dentinários. (ABOTT, 1990; CHONG; PITTFORD, 1992)

Assim sendo, podemos vislumbrar uma série de limitações do preparo e conseqüentemente da terapia convencional, a qual necessita de uma complementação para a descontaminação quer pelo uso de drogas que possuam ação direta sobre os microorganismos, ou criem condições inóspitas para o seu desenvolvimento, além de estimularem a resposta do hospedeiro, onde foram escolhidas para este estudo o hidróxido de cálcio e o iodofórmio.

O hidróxido de cálcio é uma base forte, cujo principal mecanismo de ação está associado à dissociação de seus componentes, ou seja, à liberação de íons cálcio e hidroxila (HEITHERSAY, 1975; FOREMAN; BARNES, 1990; SIQUEIRA; LOPES, 1999). O Iodofórmio tem sua ação ligada à liberação do iodo e também à volatilização do iodofórmio. A ativação desses fenômenos em tecidos vivos é decorrente da dissociação deste fármaco, em função de sua grande capacidade de reabsorção que pode ser bem controlada em função de sua radiopacidade (JUGE,

1959; MAISTO; EURASQUIM, 1965; MAISTO, 1975; CASTAGNOLA, 1976; MANISALI; YÜCEL; ERİSEN., 1989; DANIEL; JAEGER; MACHADO, 1999)

Na prática, estas duas drogas apresentam ação eficiente no tratamento de dentes portadores de lesão periapical (VERNIEKS; MESSER, 1978; PALLOTTA, 2002; PETERS; WESSELINK, 2002; DE MOOR; DE WITTE, 2002). Outras avaliações, valendo-se de dentes de ratos e cachorros, realizadas nestas condições puderam verificar a validade da inserção de qualquer uma das medicações intracanaís no processo de reparo tecidual (VOJINOVIC; SRNIÉ, 1975; ROCCA et al., 1985; DANIEL, 2001; GOMES, 2003).

A dissociação de íons hidroxila promove alcalinidade na área de ação, invertendo o pH do meio inflamado (HEITHERSAY, 1975) o que cria condições as quais poucas bactérias podem sobreviver (FOREMAN; BARNES, 1990; SIQUEIRA; LOPES, 1999). Todavia, seu comportamento é limitado quando sua ação é avaliada em determinadas condições clínicas como a contaminação em profundidade (HAAPASALO; ØRSTAVIK, 1987; FUSS et al., 2002) e na presença de hidroxiapatita e dentina contra o *E.faecalis* em estudos realizados e analisados por meio da diluição em caldo (HAAPASALO et al, 2000; DISTEL; HATTON; GILLESPIE, 2002; HAENNI et al., 2003). o que não pôde ser repetido quando foi utilizada a difusão em Agar (BREDER, 2003), condição esta em que o comportamento antibacteriano das drogas é limitado (BARBOSA et al., 1997, GOMES et al., 2002).

Ainda, quando comparados, o hidróxido de cálcio e o iodofórmio possuem comportamento antibacteriano bastante semelhante, a não ser pelo fato deste ter um comportamento mais eficiente nas condições de anaerobiose (PALLOTTA, 2001), onde levamos em consideração a maior liberação de iodo em estado nascente, pois sabemos que há uma maior dissociação do iodo quando da presença de tecidos

orgânicos em desintegração, ausência de luminosidade, temperatura ideal, localização em meios alcalinos e ausência de oxigênio (MAISTO, 1975; SEMERARO; MAGALHÃES, 1978; DANIEL; JAEGER; MACHADO, 1999), condições encontradas, a exceção da alcalinidade em casos de necrose pulpar. Soma-se a esse fato, a ação direta sobre o lipopolissacarídeo da membrana celular bacteriana, pois ambos possuem a capacidade de alterá-lo (SAFAVI; NICHOLS, 1994; FERNANDES, 1997; NELSON-FILHO et al., 2002).

Outras ações do hidróxido de cálcio estão ligadas a ação direta sobre as bactérias, pois os mesmos levam a lise da membrana celular citoplasmática, desnaturação de proteínas estruturais e lise de DNA, altera a síntese da membrana celular, podendo, inclusive, agir sobre características estruturais das bactérias, como forma e motilidade (SIQUEIRA; LOPES, 1999; SAFAVI; NICHOLS, 1994). Podemos dizer, a esse respeito, pelos resultados ora encontrados que esta droga também age destruindo o tecido normal com a formação de áreas de necrose aos três e aos cinco dias de observação histológica e um atraso muito grande do reparo, como serão posteriormente abordados.

A dissociação do hidróxido de cálcio nos tecidos leva à liberação de íons cálcio também, que agem diminuindo a permeabilidade dos vasos e age na síntese de colágeno (HEITHERSAY, 1975). Essa liberação de íons ainda age como oxidante de radicais livres (SIQUEIRA; LOPES, 1999). A síntese de colágeno não parece ser estimulada na presença desta droga, pois ela apresenta níveis muito baixos para todos os períodos experimentais estudados.

A liberação de iodo no iodofórmio age, quando em contato com os tecidos, em sinergia com a capacidade de oxidação do iodofórmio, fazendo com que esse medicamento apresente propriedades detergentes, desinfetantes e desodorizantes

(SEMERARO; MAGALHÃES, 1978; DANIEL; JAEGER; MACHADO, 1999), além de ele possuir atividades anestésica (DANIEL; JAEGER; MACHADO, 1999) e higroscópica (JUGE, 1959). Sua ação detergente pode ser verificada, de acordo com esta investigação, pela destruição da camada de tecido adiposo adjacente ao subcutâneo, o qual inicia sua reorganização aos cinco dias de observação, estando praticamente íntegro aos onze dias.

O emprego do iodofórmio em extensas lesões periapicais é justificado por sua propriedade de promover a formação de tecido de granulação, através do estímulo da resposta inflamatória o que contribui para a reparação óssea (MAISTO; EURASQUIM, 1965; MAISTO, 1975; CASTAGNOLA, 1976; DANIEL; JAEGER; MACHADO, 1999). O tecido de granulação é caracterizado por ter uma grande quantidade de fibroblastos e principalmente vasos neoformados, condição encontrada, neste estudo, para as observações em todos os períodos, especialmente os cinco dias, com uma grande quantidade de células e vasos.

Como limitações, as pastas iodoformadas, apresentam sabor desagradável e a possibilidade de desenvolvimento de reação alérgica ao iodo (CASTAGNOLA, 1976), embora não haja registros dessa intercorrência, além de poder provocar pigmentação nos dentes (DANIEL; JAEGER; MACHADO, 1999), o que pode ser facilmente resolvido através da limpeza adequada da câmara pulpar.

A ação destes dois medicamentos, outrossim, denota a necessidade de contato entre a medicação e contaminação, bem como a presença de uma relação direta entre a concentração de medicação e sua eficácia (KONTAKIOTIS; NAKOU; GEORGOPOULOU, 1995; PALLOTTA, 2001). Na prática isso se traduz na necessidade de se realizar a medicação extracanal onde a mesma deve ser extravasada para a região periapical.

Em função desta necessidade, os mecanismos envolvidos na resposta inflamatória a estas duas drogas deve ser melhor conhecido, para verificar seu comportamento e tentar entender o porque de estas contradições que existem em relação ao comportamento das drogas não corresponder a realidade clínica (VERNIEKS; MESSER, 1978; PALLOTTA, 2002; PETERS; WESSELINK, 2002; DE MOOR; DE WITTE, 2002).

Para que seja possível utilizar esta prática clínica, devemos conhecer o comportamento destas drogas quando em contato com os tecidos vivos. Foi preterido, neste estudo, a utilização de cultura de células (MERYON; BROOK, 1990; DANIEL, 1999; NEFF; LAYMANE; JEANSONNE, 2002; SCHWARZE; LEYHAUSEN; GERUTSEN, 2002; HAUMAN; LOVE, 2003) em função de a mesma não levar em consideração a existência de inter-relações entre as células dentro de um mesmo tecido, o que no nosso caso parece ser a chave para o entendimento do processo.

Considera-se, assim, a necessidade de avaliar o conjunto de reações que são desenvolvidas como resposta na região periapical às diferentes medicações a serem testadas. Foi escolhido, então, o dorso de ratos, em função do conhecimento a partir de um grande número de estudos já realizados, de seu comportamento em condições de normalidade (HEBEL; STROMBERG, 1976) como frente a um quadro de agressão. (GUARACIABA; FAVA DE MORAES, 1980; OLSSON; SLIWKOWSKI; LANGELAND, 1981; SAFAVI; PASCON; LANGELAND, 1983; ØRSTRÁVIK e MJÖR, 1988; YESILOY et al, 1988; ZMENER; GUGLIELMOTTI; CABRINI, 1988; HAUMAN; LOVE, 2003)

A utilização da análise histológica qualitativa (GUARACIABA; FAVA DE MORAES, 1980; SAFAVI; PASCON; LANGELAND, 1983; MICHEL, 1984; CHEDID, 1988; YESILOY et al, 1988; DANIEL, 2001; GOMES, 2003) e quantitativa –

morfométrica – (OLSSON; SLIWKOWSKI; LANGELAND, 1981; SAFAVI; PASCON; LANGELAND, 1983; ZMENER; GUGLIELMOTTI; CABRINI, 1988) é reconhecidamente comprovada e em função de seu uso.

Na avaliação realizada neste estudo, podemos dizer que, nas diferentes análises, o comportamento do iodofórmio (FOD) foi significativamente melhor que o do hidróxido de cálcio (FOE) quando colocados no subcutâneo do rato. A análise macroscópica já permite visualizar um tecido íntegro para o primeiro grupo, enquanto o grupo FOE apresenta uma área de necrose e/ou edema (Figuras 5.1., 5.2. e 5.3.) que parece aumentar com o passar dos períodos experimentais. Estes resultados parecem ser condizentes com a literatura no que se refere ao iodofórmio que é bem tolerado pelos tecidos periapicais (JUGE, 1959; VOJINOVIC; SRNIÉ, 1975; MANISALI; YÜCEL; ERISEN, 1989) Quando aplicado em cultura de células, todavia, o iodofórmio é bastante agressivo (MERYON; BROOK, 1990; DANIEL, 1998), sendo mais citotóxico que o hidróxido de cálcio (DANIEL, 1998). O principal motivo que pode demonstrar esta aparente discrepância entre a realidade clínica e a tolerância tecidual é a metodologia empregada que, apesar de comprovadamente eficaz, possui limitações.

Já na análise histológica, esta condição é mais bem explicitada, onde o grupo FOE apresenta um atraso maior no processo de reparo, apresentando, aos três dias, o epitélio sem sinais de reconstrução epitelial (Figura 5.4. – A), com uma grande área de necrose que se estende até a camada muscular, enquanto no FOD (Figura 5.4. – B), pode ser observada uma área de necrose restrita à região da ferida, apesar da perda do tecido adiposo, o que pode ser justificada pela interação inata do iodo com a camada de gordura. Ainda, células fagocíticas envolvem a lesão, denotando a resposta inflamatória sendo desencadeada.

Passados cinco dias, a condição de reparo é mantida para o grupo FOE, sem sinais de reepitelização, sendo agora possível visualizar a presença de células gigantes na borda da lesão até a camada muscular, condição semelhante ao grupo FOD aos três dias. O iodoformio, aos cinco dias, mostra o epitélio em estágio de reparo, sendo agora possível verificar a derme com um grande infiltrado inflamatório, apresentando também neovascularização, o que confirma os dados apresentados na literatura (MAISTO; EURASQUIM, 1965; MAISTO, 1975; CASTAGNOLA, 1976).

Pós 11 dias, o grupo FOE é apresentado como condição semelhante à apresentada pelo FOD aos cinco dias, somados a reorganização dos tecidos adiposo e muscular. O tratamento com iodoformio mostra um epitélio e o conjuntivo íntegros, e o tecido adiposo neoformando sobre a ferida, o que parece estar caminhando para o comportamento normal do tecido de dorso de rato (HEBEL; STROMBERG, 1976).

A presença de colágeno para o grupo tratado com hidróxido de cálcio é apresentada como do tipo I que vai da base da ferida – aos três e aos cinco dias – e do tipo III ao redor da lesão aos onze dias, enquanto o outro tratamento (iodoformio), demonstra colágeno tipo I ao redor de toda a ferida aos três dias, o que muda progressivamente para colágeno tipo III ao redor de toda a ferida, permeado no infiltrado inflamatório, essa mudança é característica da fase de proliferação fibroblástica e de reparação no desenvolvimento do reparo (Oliveira, 1999).

Avaliando a análise quantitativa, algumas correlações podem ser realizadas e, de posse dos dados, é possível demonstrar e até mesmo justificar outros achados histológicos e clínicos.

Podemos verificar que a resposta promovida no FOD é caracterizada por neoformação vascular (angiogênese), que pode ser vista em todos os períodos

experimentais (Tabela 5.1., Gráfico 5.9.)– com o pico aos cinco dias - com uma quantidade muito grande de vasos nos campos avaliados. Este mesmo tempo experimental – cinco dias – mostra um grande número de células de defesa, em especial neutrófilos e linfócitos (Tabela 5.1. e Gráficos 5.7 e 5.8), que são trazidas pelos vasos que ora também estão em número elevado. O meio celular está com uma grande quantidade de macrófagos (Tabela 5.1. e Gráfico 5.6.), os quais necessitam, para uma ação mais efetiva, um sistema de drenagem eficiente para poderem eliminar seus catabólitos.

A presença de macrófagos é somente alterada no grupo FOD, possivelmente pela sua alta antigenicidade, pois nos grupos GCII e FOE, a ocorrência desta célula é semelhante durante o experimento, demonstrando que esta droga não é capaz de interferir com seu comportamento. Resultados encontrados para cimentos a base de hidróxido de cálcio contradizem essa afirmação, pois após períodos curtos de observação, havia uma alteração da quantidade de macrófagos, que pode ter sido causada por outro componente do cimento (ZMENER; GUGLIELMOTTI; CABRINI, 1988), informação esta que parece estar de acordo com o conhecimento da melhor tolerância tecidual dos cimentos que de medicações a base de hidróxido de cálcio (YESILOY et al., 1988).

Avaliando a presença de células exclusivamente inflamatórias – macrófagos, linfócitos e neutrófilos – tão somente (Tabela 5.1. e Gráficos 5.6., 5.7. e 5.8.), elas apresentam-se em maior quantidade no grupo GCII aos três dias em relação aos demais. Neste grupo esta quantidade se mantém após cinco dias, já nos grupos tratados ela aumenta, ainda que em proporções diferentes. No grupo FOE, há um aumento discreto, enquanto no grupo FOD o número destas células praticamente quadruplica. Passados onze dias, a tendência de aumento registrada permanece

para os grupos da ferida controle e do hidróxido de cálcio, com maior número para o primeiro grupo, interpondo-se, em função de uma discreta diminuição, o grupo do iodofórmio entre eles. A presença destas células é representativa de quadros inflamatórios agudos no caso dos macrófagos e neutrófilos e crônicos no caso dos linfócitos, o que não pode ser dividido, a não ser de forma didática. Os dois primeiros são responsáveis pelos mecanismos de fagocitose eliminando o agente agressor e suas conseqüências, enquanto o outro desenvolve uma resposta específica ao agente que ali está intervindo.

Esta análise nos permite dizer que o iodofórmio apresenta um pico da reação inflamatória aos cinco dias tendendo, após onze dias, a diminuir a inflamação, pois há uma diminuição neste período da presença de vasos. Um fato a ser considerado é a resposta do rato ser de duas a três vezes mais rápida que no ser humano, sendo assim, o pico de inflamação para este tratamento ocorre aos quinze dias no homem e a estabilidade deste quadro entre os vinte e trinta dias.

Os fibroblastos (Tabela 5.1. e Gráfico 5.5.) apresentam um aspecto distinto, pois, pela metodologia empregada, não é possível estabelecer se os mesmos estão ativos ou não. A análise histológica mostra um número praticamente constante nos diferentes períodos experimentais para o hidróxido de cálcio, o que não acontece nos demais grupos tratados que apresentam um aumento do número que é mais significativo no GCII entre os três e cinco dias e no FOD entre os cinco e onze dias, o que demonstra que o processo de reparo, ainda que o mesmo está atrasado.

A quantidade de fibras colágenas – representativa de reparo da lesão - (Tabela 5.1. e Gráfico 5.4.) apresenta características semelhantes entre os grupos GCII e FOE, com aumento dos três para os cinco dias e diminuição aos onze dias, diferenciando-se pela quantidade presente que é muito maior no primeiro grupo; já o

FOD apresenta uma diminuição abrupta nos dois primeiros tempos experimentais, o que poderia ser explicada pela demora desta droga em desencadear o conjunto de reações, com elevação de sua quantidade posteriormente aos onze dias. Levando em consideração que nem todos os fibroblastos ali presentes estão ativos, esta condição fica clara em que o tratamento com hidróxido de cálcio, apesar de mostrar uma quantidade grande de fibroblastos, apresenta poucas fibras colágenas, devendo os mesmos estarem em fase de latência ou mesmo de necrose.

Este fato pode ser melhor observado quando verificamos a presença de outras estruturas para este grupo, é possível verificar que, além de ser em número elevado, a mesma é representada por áreas de necrose, o que não acontece com o tecido normal em que podem ser vistos folículos pilosos em abundância, característicos do animal.

Avaliações anteriores da resposta destas duas drogas (DANIEL, 2001; GOMES, 2003) demonstram que o gatilho da ação para o iodofórmio é efetivamente mais lento – verificado pela manutenção da quantidade de fibras colágenas aos três dias –, o que, em termos de reparo, não interfere, haja vista, no presente estudo, que em um espaço de dois dias há uma alteração completa do comportamento do iodofórmio, onde em espaços mais curtos de tempo, seu efeito é maior, conforme observado aos cinco dias com um grande aumento da vascularização e das células inflamatórias e diminuição das fibras colágenas. Têm-se então que esta droga pareceu ser mais eficiente, retardando menos o reparo confirmando os achados clínicos (PALLOTTA, 2002). O tratamento com hidróxido de cálcio causa uma necrose tecidual que atinge inclusive a camada muscular, apesar do mesmo ser apenas inserido no subcutâneo do animal, assim sendo o atraso causado no reparo de um tecido conjuntivo com o hidróxido de cálcio é muito maior, o que, mais uma

vez, vem a confirmar os achados clínicos de se evitar ao máximo o extravasamento desta droga para o tecido apical em função de sua grande capacidade destrutiva. (DE MOOR; DE WITTE, 2002)

A velocidade de reação poderia ser explicada, assim, pelo fato da dissociação do iodo ser lenta e constante, bem como a possibilidade de o iodofórmio estar agindo como um corpo estranho somente, o que não acontece para o hidróxido de cálcio, apesar de estamos utilizando um veículo de liberação lenta de cálcio e hidroxila (FAVA; SAUNDERS, 1999).

A pasta iodoformada empregada neste estudo parece ser mais bem aceita pelo organismo que a pasta Guedes-Pinto, coincidindo, em ambos os casos, com uma grande ativação da resposta inflamatória, com a presença de macrófagos e linfócitos. (MICHEL, 1984; CHEDID, 1988). Sua maior agressividade está ligada á presença de outros componentes na pasta como o PMCC que é reconhecidamente citotóxico. Por outro lado, afirmações que determinam a utilização do hidróxido de cálcio em qualquer comprometimento pulpar (FAVA; SAUNDERS, 1999) estão equivocadas, pois ele não pode ser utilizado em casos de polpas vitais, devido a sua condição de agressividade tecidual, nem extravasado para a porção apical o que demonstra uma destruição tecidual e conseqüente alto índice de pós-operatório dolorido. (DE MOOR; DE WITTE, 2002) Além de o mesmo não ter a mesma ação na presença de hidroxiapatita e dentina. (HAAPASLO et al., 2000)

Na análise do processo reparacional do organismo, este pode ser classificado como sendo de regeneração ou cicatrização. Na regeneração, o tecido reparado é muito semelhante ao tecido original, o que não acontece na cicatrização, onde uma fibrose é usualmente depositada em substituição ao tecido lesionado. Este processo é dividido, pela literatura, em diferentes fases e, dado a similaridade

dos eventos ora encontrados, visto que nada mais é observado que o reparo, será sugerida, pelo autor, uma divisão de eventos que possam colocar as diferentes observações histológicas encontradas nas fases apresentadas e resumidas por Oliveira (1999), a saber: a) fase de inflamação – presença de células da inflamação inespecífica; b) reepitelização - regularização da superfície epitelial e recobrimento do conjuntivo; c) angiogênese - neoformação vascular e aumento das células de defesa; d) proliferação fibroblástica - formação do tecido de granulação com grande quantidade de fibroblastos; e e) contração – tecido voltando a normalidade, com menor quantidade de células e vasos.

Para o grupo GCII aos três dias, ele se apresenta na fase de inflamação indo para a reepitelização; aos cinco dias está mais caracterizada a fase de proliferação fibroblástica, e aos onze dias inicia-se a fase de contração. Já no grupo FOE, aos três dias só pode ser visualizada destruição tecidual, caracterizando-se posteriormente como inflamação que se matura caminhando para a reepitelização, aos cinco e onze dias respectivamente. O tratamento do grupo FOD, caracteriza-se, no primeiro tempo experimental, a fase de inflamação e reepitelização, progredindo para angiogênese aos cinco dias e por fim a fase de proliferação fibroblástica.

Diante destes resultados, e conhecedores das alterações dos quadros inflamatórios, o comportamento clínico frente ao iodofórmio deve mudar, sendo preponderante em relação ao hidróxido de cálcio. Todavia seus resultados devem ser novamente avaliados colocando-se uma quantidade determinada e bem menor de medicação intracanal, e assim verificar se pode ou não haver outro tipo de resposta, apesar de clinicamente ser visualizado um grande número de diferentes lesões no que se refere a tamanho e a quantidade de medicação que pode ser colocada em seu interior.

Outro estudo deve versar sobre o fato de alguns pós-operatórios de medicação com um outro medicamento ser tão diferente devendo assim ser considerados os mediadores químicos envolvidos ou inibidos no processo para que possamos chegar realmente a uma nova medicação que realmente estimule a defesa do organismo, em um nível clinicamente aceitável de resposta – sem inchaço, sem dor – contando com um número infinitamente menor de contra-indicações.

7 CONCLUSÃO

Em função da Análise dos resultados encontrados, os autores puderam concluir que:

1. No que se refere a avaliação qualitativa da resposta
 - a. A ação do iodofórmio mostrou interferir menos no processo de reparo, ainda que tenha sido atingido seu pico de ação aos cinco dias, com ativação do reparo e estabilização da mesma aos onze dias de observação;
 - b. O hidróxido de cálcio gerou uma grande área de necrose que iniciou sua regularização somente aos onze dias do estudo.
2. No que se refere a avaliação quantitativa da resposta
 - a. Avaliando os componentes inflamatórios, o grupo do iodofórmio apresentou um alto índice de neovascularização em todos os períodos experimentais, bem como uma grande quantidade de células inflamatórias – macrófagos, linfócitos e neutrófilos – em especial aos cinco dias de observação. Já o hidróxido de cálcio mostrou uma condição mais favorável a reparação após onze dias do estudo;
 - b. Em relação às fibras colágenas, o grupo do hidróxido de cálcio apresentou uma manutenção inicial de sua quantidade, que diminuiu aos onze dias, o que não aconteceu com o iodofórmio que diminuiu muito entre os primeiros períodos, estando inclusive inferior ao outro grupo, voltando a subir após onze dias;

- c. Os fibroblastos apresentaram-se em quantidades semelhantes para todos os períodos experimentais no grupo do hidróxido de cálcio e foram aumentando sua presença no grupo do iodofórmio;
- d. A presença de outras estruturas foi observada no grupo do hidróxido de cálcio em todos os períodos e somente presente no iodofórmio aos três dias de observação.

REFERÊNCIAS¹

- Abbott PV. Medicaments: Aids to success in endodontics. Part 1. A review of the literature. Aust Dent J 1990; 36(5):438-49.
- Allard U; Nord C-E; Sjöberg L., Strömberg T. Experimental infections with Staphylococcus aureus, Streptococcus sanguis, pseudomonas aeruginosa, and Bacteroides fragilis in the jaws of dogs. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1979; 48(5):454-62.
- Barbosa CAM, Gonçalves RB, Siqueira Jr. JF, Uzeda M. Evaluation of the Antibacterial Activities of Calcium Hydroxide, Chlorhexidine, and Camphorated Paramonochlorophenol as Intracanal Medicament. A Clinical and Laboratory Study. J Endod 1997; 23(5):297-300.
- Breder CMB. Atividade Antibacteriana do Iodofórmio e do Hidróxido de Cálcio, Associados à dentina: Estudo *in vitro*. [Dissertação de Mestrado]. Campinas: Centro de Estudo e Pesquisa São Leopoldo Mandic. 2003.
- Castagnola L. The use of iodoform paste (Wilkhoff method) in modern endodontic therapy. Quintessence Int 1976; 7(4):19-23.
- Chedid RR. Estudo histopatológico da reação da polpa de ratos submetidos a ação de pastas e medicamentos utilizados na terapia pulpar de dentes decíduos. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 1988
- Chong BS, Pittford TR. The role of intracanal medication in root canal treatment. Int Endod J 1992; 25(2):97-106.
- Daniel RLDP, Jaeger MMM, Machado MEL. Emprego do iodofórmio em Endodontia – revisão da literatura. RPG 1999;6(2):175-9.
- Daniel RLDP. Análise Comparativa in vitro do Iodofórmio e do Hidróxido de Cálcio Empregando-se dois Diferentes Veículos. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 1998.
- Daniel RLDP. Análises radiográfica e microscópica do processo de reparo de lesões periapicais após o emprego de medicação intracanal em dentes de rato. [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2001.

¹ De acordo com Estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo base de dados MEDLINE.

DeMoor RJG, DeWitte MJC. Periapical Lesions accidentally filled with calcium hydroxide. *Int Endod J* 2002; 35(11): 946-58.

Distel, JW, Hatton JF, Gillespie J. Biofilm Formation in Medicated Root Canals. *J Endod* 2002; 28(10): 689-93.

Fabricius L, Dahlén G, Ohman AE, Möller JR Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. *Scand J Dent Res* 1982;90(2):134-44.

Fava LRG, Saunders WP. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical conditions. *Int Endod J* 1999;32(4):257-82.

Fernandes KPS. Avaliação da Interação entre a Endotoxina Bacteriana e o Iodofórmio. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da UCCB; 1997.

Foreman PC, Barnes F. A review of calcium hydroxide. *Int Endod J* 1990;23(6): 283-97.

Fuss Z, Mizrahi A, Lin S, Cherniak O, Weiss EI. A Laboratory study of the effect of calcium hydroxide mixed with iodine or electrophoretically activated cooper on bacterial viability in dentinal tubules. *Int Endod J* 2002; 35(6): 522-6.

Gomes BPFA, Ferraz CCR, Garrido FD, Rosalen PL, Zaia AA, et al. Microbial Suscetibility to Calcium Hydroxide Pastes and Their Vehicles. *J Endod* 2002; 28(11): 758-61.

Gomes CC. Avaliação Histológica do Reparo Tecidual em Dentes de Cães Submetidos a Tratamento Endodôntico em Sessão Única ou Empregando dois Diferentes Curativos de Demora. [Dissertação de Mestrado]. Campinas: Centro de Estudo e Pesquisa São Leopoldo Mandic. 2003.

Guaraciaba AMBB, Fava-de-Moraes F. Reação do Tecido Conjuntivo Subcutâneo do Rato ao Implante dos Cimentos Endodônticos AH-26 e N-Rickert. *Rev Bras Odont* 1980;37(3):7-17.

Haapasalo HK, Sirén EK, Waltimo TMT., Ørstavik D, Haapasalo MPP. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. *Int Endod J* 2000;33(2):126-31.

Haapasalo M, Ørstavik D. In vitro Infection and Desinfection of Dentinal Tubules. *J Dent Res* 1987;66(8):1375-9.

Haenni S, Schmidlin PR, Mueller B, Sener B, Zehnder M. Chemical and antimicrobial properties of calcium hydroxide mixed with irrigating solutions. *Int Endod J* 2003; 36(2): 100-5.

Hauman CHJ, Love RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 1. Intracanal drugs and substances. *Int Endod J* 2003; 36(2):75-85.

Hebel R, Stromberg MW. Anatomy of the laboratory rat. 1st ed. Baltimore: The William ed Wilfins Company; 1976.

Heithersay GS. Calcium hydroxide in the Treatment of Pulpless Teeth with associated pathology. J Br Endod Soc 1975;8(2):74-93.

Jontell M, Okiji T, Dahlgren U, Bergenholtz G. Immune Defense Mechanisms of the Dental Pulp. Clin Rev Oral Pathol Med 1998; 9(2):179-200.

Juge H. Resorbable pastes for root canal fillings. Int Dent J 1959;9(4):461-76.

Kontakiotis E, Nakou M, Georgopoulou M. In vitro study of the indirect action of calcium hydroxide on the anaerobic flora of the root canal. Int Endod J 1995;28(6):285-9.

Leonardo, MR, Rossi MA, Silva LAB, Ito IY, Bonifacio KC. EM Evaluation of Bacterial Biofilm and Microorganisms on the Apical External Root Surface of Human Teeth. J Endod 2002; 28(12):815-18.

Maisto AO, Erausquin J. Reacción de los tejidos periapicales del molar de la rata a las pastas de obturación, reabsorbibles. Rev Assoc Odontol Argent 1965;53(1):12-20.

Maisto, O.A. Endodoncia. 3 ed. Buenos Aires: Mundi, 1975. cap. XIV. p. 217-289

Manisali Y, Yücel T, Erisen R. Overfiling of the root – a case report. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1989;68(6):773-5.

Marton, IJ, Kiss C. Protective and destructive immune reactions in apical periodontitis. Oral Microbiol Immunol 2000; 15(3): 139-50.

Meryon SD, Brook M. In vitro comparison of the cytotoxicity of twelve endodontic materials using a new technique. Int Endod J 1990. 23(1): 203-10.

Michel, JA. Estudo histopatológico da reação de subcutâneo de camundongos submetidos a ação de pasta obturadora utilizada na terapia endodôntica de dentes decíduos com polpa mortificada. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 1984.

Neff T, Layman D, Jeansonne BG. In Vitro cytotoxicity evaluation of endodontic sealers exposed to heat before assay. J Endod 2002; 28(12): 811-8.

Nelson-Filho P, Leonardo MR, Silva LAB, Assed S. Radiographic Evaluation of the Effect of Endotoxin (LPS) Plus calcium Hydroxide on Apical and periapical Tissues of Dogs. J Endod 2002; 28(10): 694-6.

Noiri, Y, Ehara A, Kawahara T, Takemura N, Ebisu S. Participation of Bacterial Biofilms in Refractory and Chronic Periapical Periodontitis. J Endod 2002; 28(10): 679-83.

Oliveira WRM. Avaliação da Atividade Cicatrizante tópica de *Caesalpinia ferrea* Mart. (pau-ferro). [Dissertação de Mestrado]. Alfenas: Universidade de Alfenas; 1999.

Olsson B, Sliwowski A, Langeland K. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodôntico materials. *J Endod* 1981; 7(8):355-69.

Ørstavik D, Mjör IA. Histopathology and X-Ray Microanalysis of the Subcutaneous Tissue Response to Endodontic Sealers. *J Endod*; 14(1):13-23.

Pallotta RC. Avaliação In Vitro da Atividade Antibacteriana de Quatro Medicções de Uso Endodôntico, pelo Método da Diluição em Caldo. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da UCCB; 1997.

Pallotta RC. A utilização do iodofórmio como medicação intracanal. *Jornal APCD regional de Osasco*; Osasco 2002 agosto; 39:8-9.

Peters LB, Wesselink PR. Periapical healing of endodontically treated teeth in one and two visits obturated in the presence or absence of detectable microorganisms. *Int Endod J* 2002;35(8):660-7.

Ramachandran Nair PN. Light and Electron Microscopic Studies of Root Canal Flora and Periapical lesions. *J Endod* 1987;13(1):29-39.

Ramachandran Nair PN, Sjögren U, Krey G, Kahnberg K-E, Sundquist G. Intraradicular Bacteria and Fungi in Root-filled, Asymptomatic Human Teeth with Therapy-resistant Periapical Lesions: A Long-term Light and Electron Microscopic Follow-up Study. *J Endod* 1990;16(12):580-8.

Rocca JP, Duprez JP; Deluzain G, Boni P. Thérapeutique des complications de la gangrène pulpaire: évaluation clinique d'une pâte de Walkhoff modifiée utilisée en technique monocône. *Chir Dent Fr* 1985; 55(306):97-99.

Safavi KE, Pascon EA; Langeland K. Evaluation of Tissue Reaction to Endodontic Materials. *J Endod* 1983;9(10):421-9.

Safavi KE, Nichols FC. Alteration of biological properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. *J Endod* 1994;20(3):127-9.

Schwarze T, Leyhausen G, Gerutsen W. Long-Term Cytocompatibility of Various Endodontic Sealers Using a New Root Canal Model. *J Endod*; 28(11): 749-53.

Seltzer S; Farber PA. Microbiologic factors in endodontology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994;78(5):634-45.

Semeraro D, Magalhães TR. Iodofórmio – Um Medicamento Poderoso. v.44, n.446, p.445-447, jul. 1978.

Siqueira Jr JF. Lesões Periapicais podem ser infectadas? Visão Crítica do Problema. *RBO* 1997; 54(1):43-6.

Siqueira Jr JF, Lopes HP. Biofilme perirradicular: estrutura, implicação no insucesso endodôntico e estratégias de tratamento. *Rev Paul Odontol* 1998;20(6):4-8.

Siqueira Jr JF, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J* 1999;32(5):361-9.

Sundquist G. Ecology of the Root Canal Flora. J Endod 1992;18(9):427-30.

Sundquist G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1994;78(4):522-30.

Tronstad L, Barnett F, Riso K, Slots J. Extraradicular endodontic infections. Endod Dent Traumatol 1987;3(2):86-90.

Tronstad L, Barnett F, Cervone F. Periapical bacteria plaque refractory to endodontic treatment. Endod Dent Traumatol 1990a;6(2):73-7.

Tronstad L, Kreshtool D, Barnett F. Microbiological monitoring and results of treatment of extraradicular endodontic infection. Endod Dent Traumatol 1990b;6(6):129-36.

Vernieks, AA, Messer LB. Calcium Hydroxide induced healing of periapical lesions: a study of 78 non-vital teeth. J Br Endod Soc 1978; 11(2): 61-70.

Vojinovic O, Srnié E. Induction of Apical Formation by the use of Calcium hydroxide and Iodoform-Chlumsky Paste in the Endodontic Treatment of Immature teeth. J Br Endod Soc 1975;8(1):16-22.

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(4): 459-67.

Zmener O, Guglielmotti MB, Cabrini RL. Biocompatibility of two calcium hydroxide-based endodontic sealers: a quantitative study in the subcutaneous connective tissue of the rat. J Endod 1988; 14(1):229-35.

APÊNDICE

APÊNDICE B – Valores encontrados, na análise quantitativa, da presença das diferentes estruturas para o período de observação de cinco dias nos diferentes campos observados dos grupos controle (GCII), tratado com iodofórmio (FOD) e com hidróxido de cálcio (FOE)

I – GCII – grupo da ferida controle

estrutura	CORTE						SOMA	MÉDIA	SD
	1	2	3	4	5	6			
células epiteliais	8	0	8	0	0	10	26	4,33	4,8028
fibras colágenas	45	43	37	30	42	29	226	37,67	6,8605
fibroblastos	19	17	22	30	20	24	132	22,00	4,6043
vasos	5	12	7	4	9	6	43	7,17	2,9269
neutrófilos	9	5	5	7	3	5	34	5,67	2,0656
macrófagos	12	12	11	12	16	16	79	13,17	2,2286
outros	5	6	4	9	5	3	32	5,33	2,0656
linfócitos	5	5	6	8	5	7	36	6,00	1,2649

II – FOD – grupo tratado com iodofórmio

estrutura	CORTE		SOMA	MÉDIA	SD
	1	2			
células epiteliais	0	0	0	0,00	0,0000
fibras colágenas	1	1	2	1,00	0,0000
fibroblastos	24	26	50	25,00	1,4142
vasos	25	24	49	24,50	0,7071
neutrófilos	12	11	23	11,50	0,7071
macrófagos	24	23	47	23,50	0,7071
outros	0	2	2	1,00	1,4142
linfócitos	14	13	27	13,50	0,7071

III – FOD – grupo tratado com hidróxido de cálcio

estrutura	CORTE		SOMA	MÉDIA	SD
	1	2			
células epiteliais	0	0	0,00	0	0
fibras colágenas	6	7	13	6,50	0,7071
fibroblastos	41	37	78	39,00	2,8284
vasos	3	6	9	4,50	2,1213
neutrófilos	5	6	11	5,50	0,7071
macrófagos	14	14	28	14,00	0,0000
outros	29	27	56	28,00	1,4142
linfócitos	2	2	4	2,00	0,0000

APÊNDICE C – Valores encontrados, na análise quantitativa, da presença das diferentes estruturas para o período de observação de onze dias nos diferentes campos observados dos grupos controle (GCII), tratado com iodofórmio (FOD) e com hidróxido de cálcio (FOE)

I – GCII – grupo da ferida controle

estrutura	CORTE					SOMA	MÉDIA	SD
	1	2	3	4	5			
células epiteliais	0	0	15	0	0	15	3,00	6,7082
fibras colágenas	18	23	18	30	23	112	22,40	4,9295
fibroblastos	28	27	22	23	26	126	25,20	2,5884
vasos	4	3	5	3	3	18	3,60	0,8944
neutrófilos	15	9	11	9	11	55	11,00	2,4495
macrófagos	27	25	20	23	24	119	23,80	2,5884
outros						0	0	0
linfócitos	8	13	9	12	13	55	11,00	2,3452

II – FOD – grupo tratado com iodofórmio

estrutura	CORTE					SOMA	MÉDIA	SD
	1	2	3	4	5			
células epiteliais	9	0	0	8	0	17	3,40	4,6690
fibras colágenas	6	8	9	6	6	35	7,00	1,4142
fibroblastos	42	42	43	34	48	209	41,80	5,0200
vasos	9	10	10	9	8	46	9,20	0,8367
neutrófilos	5	5	6	10	9	35	7,00	2,3452
macrófagos	24	29	27	25	21	126	25,20	3,0332
outros	0	0	0	0	0	0	0,00	0,0000
linfócitos	5	6	5	8	8	32	6,40	1,5166

III – FOD – grupo tratado com hidróxido de cálcio

estrutura	CORTE						SOMA	MÉDIA	SD
	1	2	3	4	5	6			
células epiteliais	0	0	0	1	1	0	2	0,33	0,5164
fibras colágenas	1	2	2	2	3	1	11	1,83	0,7528
fibroblastos	40	42	38	34	40	42	236	39,33	3,0111
vasos	7	6	8	4	2	6	33	5,50	2,1679
neutrófilos	6	6	8	7	6	11	44	7,33	1,9664
macrófagos	25	27	26	21	22	21	142	23,67	2,6583
outros	14	15	14	29	22	17	111	18,50	5,9582
linfócitos	7	2	4	2	4	2	21	3,50	1,9748

APÊNDICE D – Valores encontrados, na análise quantitativa, da presença das diferentes estruturas para o tecido normal.

estrutura	CORTE				SOMA	MÉDIA	SD
	1	2	3	4			
células epiteliais	0	0	0	0	0	0,00	0,0000
fibras colágenas	41	45	48	46	180	45,00	2,9439
fibroblastos	35	37	31	34	137	34,25	2,5000
vasos	4	3	2	2	11	2,75	0,9574
neutrófilos	1	1	1	1	4	1,00	0,0000
macrófagos	15	12	14	15	56	14,00	1,4142
outros	4	2	4	2	12	3,00	1,1547
linfócitos	0	0	0	0	0	0,00	0,0000

ANEXOS

ANEXO A – Análise da distribuição amostral da presença de células epiteliais, após três dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

Intervalos de classe:	M-3s	M-2s	M-1s	Med	M+1s	M+2s	M+3s
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	0,00	0,00	84,21	5,26	5,26	5,26

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	93,66	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000 %	<i>testada não é normal</i>

ANEXO B – Análise estatística da presença de células epiteliais nos diferentes grupos na análise realizada três dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X $\text{Ca}(\text{OH})_2$	0,2000	Ns
Iodofórmio X Controle	0,4000	Ns
Iodofórmio X Tecido Normal	1,7000	Ns
$\text{Ca}(\text{OH})_2$ X Controle	0,2000	Ns
$\text{Ca}(\text{OH})_2$ X Tecido Normal	1,9000	Ns
Controle X Tecido Normal	2,1000	Ns
Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 0,9235 Valor do χ^2 para 2 graus de liberdade: 0,92 Probabilidade de Ho para esse valor: 81,98 % Não-Significante (alfa > 0,05)		

ANEXO C– Análise da distribuição amostral da presença de fibras colágenas, após três dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M-3s</u>	<u>M-2s</u>	<u>M-1s</u>	<u>Med</u>	<u>M+1s</u>	<u>M+2s</u>	<u>M+3s</u>
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	5,26	31,58	15,79	47,37	0,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	44,40	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000 %	<i>testada não é normal</i>

ANEXO D – Análise estatística da presença de fibras colágenas nos diferentes grupos na análise realizada três dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X Ca(OH) ₂	12,0000	0,1%
Iodofórmio X Controle	7,0000	0,1%
Iodofórmio X Tecido Normal	0,0000	Ns
Ca(OH) ₂ X Controle	5,0000	1%
Ca(OH) ₂ X Tecido Normal	12,0000	0,1%
Controle X Tecido Normal	7,0000	0,1%

Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 15,5145
 Valor do X² para 2 graus de liberdade: 15,51
 Probabilidade de Ho para esse valor: 0,14 %
 Significante ao nível de 1% (alfa =0,01)

ANEXO E – Análise da distribuição amostral da presença de fibroblastos, após três dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Frequências por intervalos de classe:°

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M-3s</u>	<u>M-2s</u>	<u>M-1s</u>	<u>Med</u>	<u>M+1s</u>	<u>M+2s</u>	<u>M+3s</u>
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	5,26	31,58	21,05	42,11	0,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	29,80	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000 %	<i>testada não é normal</i>

ANEXO F – Análise estatística da presença de fibroblastos nos diferentes grupos na análise realizada três dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X Ca(OH) ₂	9,6000	0,1%
Iodofórmio X Controle	3,4000	5%
Iodofórmio X Tecido Normal	5,5500	1%
Ca(OH) ₂ X Controle	13,0000	0,1%
Ca(OH) ₂ X Tecido Normal	4,0500	5%
Controle X Tecido Normal	8,9500	0,1%
Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 15,6047		
Valor do X ² para 2 graus de liberdade: 15,60		
Probabilidade de Ho para esse valor: 0,14 %		
Significante ao nível de 1% (alfa =0,01)		

ANEXO G – Análise da distribuição amostral da presença de macrófagos, após três dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M-3s</u>	<u>M-2s</u>	<u>M-1s</u>	<u>Med</u>	<u>M+1s</u>	<u>M+2s</u>	<u>M+3s</u>
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	10,53	21,05	36,84	31,58	0,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	13,16	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	1,0500 %	<i>testada não é normal</i>

ANEXO H – Análise estatística da presença de macrófagos nos diferentes grupos na análise realizada três dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X $\text{Ca}(\text{OH})_2$	7,3000	1%
Iodofórmio X Controle	7,3000	1%
Iodofórmio X Tecido Normal	12,1500	0,1%
$\text{Ca}(\text{OH})_2$ X Controle	0,0000	Ns
$\text{Ca}(\text{OH})_2$ X Tecido Normal	4,8500	Ns
Controle X Tecido Normal	4,8500	Ns

Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 11,1040

Valor do X^2 para 2 graus de liberdade: 11,10

Probabilidade de Ho para esse valor: 1,12 %

Significante ao nível de 5% (alfa =0,05)

ANEXO I – Análise da distribuição amostral da presença de neutrófilos,
após três dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

Intervalos de classe:	M-3s	M-2s	M-1s	Med	M+1s	M+2s	M+3s
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	0,00	21,05	57,98	10,53	10,53	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	26,53	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000 %	<i>testada não é normal</i>

ANEXO J – Análise estatística da presença de neutrófilos nos
diferentes grupos na análise realizada três dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X Ca(OH) ₂	7,6000	0,1%
Iodofórmio X Controle	0,8000	Ns
Iodofórmio X Tecido Normal	6,7000	1%
Ca(OH) ₂ X Controle	6,8000	0,1%
Ca(OH) ₂ X Tecido Normal	14,3000	0,1%
Controle X Tecido Normal	7,5000	0,1%

Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 15,0349
 Valor do X² para 2 graus de liberdade: 15,03
 Probabilidade de Ho para esse valor: 0,18 %
 Significante ao nível de 1% (alfa =0,01)

ANEXO K – Análise da distribuição amostral da presença de linfócitos,
após três dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M-3s</u>	<u>M-2s</u>	<u>M-1s</u>	<u>Med</u>	<u>M+1s</u>	<u>M+2s</u>	<u>M+3s</u>
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	0,00	47,37	26,32	10,53	15,79	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	59,92	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000 %	<i>testada não é normal</i>

ANEXO L – Análise estatística da presença de linfócitos nos diferentes
grupos na análise realizada três dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X Ca(OH) ₂	7,5000	0,1%
Iodofórmio X Controle	4,5000	0,1%
Iodofórmio X Tecido Normal	7,5000	0,1%
Ca(OH) ₂ X Controle	12,0000	0,1%
Ca(OH) ₂ X Tecido Normal	0,0000	Ns
Controle X Tecido Normal	12,0000	0,1%
Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 17,4462		
Valor do X ² para 2 graus de liberdade: 17,45		
Probabilidade de Ho para esse valor: 0,06 %		
Significante ao nível de 1% (alfa =0,01)		

ANEXO M – Análise da distribuição amostral da presença de vasos,
após três dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

Intervalos de classe:	M-3s	M-2s	M-1s	Med	M+1s	M+2s	M+3s
Curva normal	0.44	5.40	24.20	39.89	24.20	5.40	0.44
Curva experimental	0.00	0.00	26,32	52,63	15,79	0,00	5,26

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	17,98	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,1200%	<i>testada não é normal</i>

ANEXO N – Análise estatística da presença de vasos nos diferentes
grupos na análise realizada três dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X Ca(OH) ₂	9,8000	0,1%
Iodofórmio X Controle	6,6000	1%
Iodofórmio X Tecido Normal	12,7500	0,1%
Ca(OH) ₂ X Controle	3,2000	Ns
Ca(OH) ₂ X Tecido Normal	2,9500	Ns
Controle X Tecido Normal	6,1500	1%

Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 13,6555
 Valor do X² para 2 graus de liberdade: 13,66
 Probabilidade de Ho para esse valor: 0,34 %
 Significante ao nível de 1% (alfa =0,01)

ANEXO O – Análise da distribuição amostral da presença de outras estruturas, após três dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M-3s</u>	<u>M-2s</u>	<u>M-1s</u>	<u>Med</u>	<u>M+1s</u>	<u>M+2s</u>	<u>M+3s</u>
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	0,00	47,37	15,79	31,58	5,26	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	44,40	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000%	<i>testada não é normal</i>

ANEXO P – Análise estatística da presença de outras estruturas nos diferentes grupos na análise realizada três dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X $\text{Ca}(\text{OH})_2$	8,8000	0,1%
Iodofórmio X Controle	7,8000	0,1%
Iodofórmio X Tecido Normal	2,7000	Ns
$\text{Ca}(\text{OH})_2$ X Controle	1,0000	Ns
$\text{Ca}(\text{OH})_2$ X Tecido Normal	11,5000	0,1%
Controle X Tecido Normal	10,5000	0,1%

Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 14,1277
 Valor do X^2 para 2 graus de liberdade: 14,13
 Probabilidade de Ho para esse valor: 0,27 %
 Significante ao nível de 1% (alfa =0,01)

ANEXO A1 – Análise da distribuição amostral da presença de células epiteliais, após cinco dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Frequências por intervalos de classe:°

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M-3s</u>	<u>M-2s</u>	<u>M-1s</u>	<u>Med</u>	<u>M+1s</u>	<u>M+2s</u>	<u>M+3s</u>
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	0,00	0,00	78,57	0,00	21,43	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	138,89	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000 %	<i>testada não é normal</i>

ANEXO B1 – Análise estatística da presença de células epiteliais nos diferentes grupos na análise realizada cinco dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X Ca(OH) ₂	0,0000	Ns
Iodofórmio X Controle	3,6667	Ns
Iodofórmio X Tecido Normal	0,0000	Ns
Ca(OH) ₂ X Controle	3,6667	Ns
Ca(OH) ₂ X Tecido Normal	0,0000	Ns
Controle X Tecido Normal	3,6667	Ns
Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 5,5801 Valor do X ² para 2 graus de liberdade: 5,58 Probabilidade de Ho para esse valor: 13,39 % Não - Significante (alfa > 0,05)		

ANEXO C1– Análise da distribuição amostral da presença de fibras colágenas, após cinco dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M-3s</u>	<u>M-2s</u>	<u>M-1s</u>	<u>Med</u>	<u>M+1s</u>	<u>M+2s</u>	<u>M+3s</u>
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	14,29	14,29	21,43	50,00	0,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	60,13	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000 %	<i>testada não é normal</i>

ANEXO D1 – Análise estatística da presença de fibras colágenas nos diferentes grupos na análise realizada cinco dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X Ca(OH) ₂	2,0000	Ns
Iodofórmio X Controle	6,5833	1%
Iodofórmio X Tecido Normal	10,1250	0,1%
Ca(OH) ₂ X Controle	4,5833	5%
Ca(OH) ₂ X Tecido Normal	8,1250	1%
Controle X Tecido Normal	3,5417	5%

Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 9,9927
 Valor do X² para 2 graus de liberdade: 9,99
 Probabilidade de Ho para esse valor: 1,86 %
 Significante ao nível de 5% (alfa = 0,05)

ANEXO E1 – Análise da distribuição amostral da presença de fibroblastos, após cinco dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Frequências por intervalos de classe:°

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M-3s</u>	<u>M-2s</u>	<u>M-1s</u>	<u>Med</u>	<u>M+1s</u>	<u>M+2s</u>	<u>M+3s</u>
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	0,00	42,86	21,43	28,57	7,14	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	29,68	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000%	<i>testada não é normal</i>

ANEXO F1 – Análise estatística da presença de fibroblastos nos diferentes grupos na análise realizada cinco dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X Ca(OH) ₂	7,0000	1%
Iodofórmio X Controle	2,3333	Ns
Iodofórmio X Tecido Normal	4,3750	5%
Ca(OH) ₂ X Controle	9,3333	0,1%
Ca(OH) ₂ X Tecido Normal	2,6250	Ns
Controle X Tecido Normal	6,7083	0,1%
Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 10,6384 Valor do X ² para 2 graus de liberdade: 10,64 Probabilidade de Ho para esse valor: 1,39 % Significante ao nível de 5% (alfa = 0,05)		

ANEXO G1 – Análise da distribuição amostral da presença de macrófagos, após cinco dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Frequências por intervalos de classe:°

Intervalos de classe:	M-3s	M-2s	M-1s	Med	M+1s	M+2s	M+3s
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	0,00	35,71	50,00	0,00	14,29	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	52,26	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000 %	<i>testada não é normal</i>

ANEXO H1 – Análise estatística da presença de macrófagos nos diferentes grupos na análise realizada cinco dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X Ca(OH) ₂	6,5000	Ns
Iodofórmio X Controle	7,7500	5%
Iodofórmio X Tecido Normal	6,1250	Ns
Ca(OH) ₂ X Controle	1,2500	Ns
Ca(OH) ₂ X Tecido Normal	0,3750	Ns
Controle X Tecido Normal	1,6250	ns

Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 5,3858
 Valor do X² para 2 graus de liberdade: 5,39
 Probabilidade de Ho para esse valor: 14,56 %
 Não - Significante (alfa > 0,05)

ANEXO I1 – Análise da distribuição amostral da presença de neutrófilos, após cinco dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M-3s</u>	<u>M-2s</u>	<u>M-1s</u>	<u>Med</u>	<u>M+1s</u>	<u>M+2s</u>	<u>M+3s</u>
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	0,00	35,71	35,71	14,29	14,29	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	30,00	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000 %	<i>testada não é normal</i>

ANEXO J1 – Análise estatística da presença de neutrófilos nos diferentes grupos na análise realizada cinco dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X Ca(OH)_2	4,7500	5%
Iodofórmio X Controle	5,0833	1%
Iodofórmio X Tecido Normal	11,0000	0,1%
Ca(OH)_2 X Controle	0,3333	Ns
Ca(OH)_2 X Tecido Normal	6,2500	1%
Controle X Tecido Normal	5,9167	0,1%
Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 10,7686 Valor do χ^2 para 2 graus de liberdade: 10,77 Probabilidade de Ho para esse valor: 1,30 % Significante ao nível de 5% (alfa =0,05)		

ANEXO K1 – Análise da distribuição amostral da presença de linfócitos,
após cinco dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Frequências por intervalos de classe:°

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M-3s</u>	<u>M-2s</u>	<u>M-1s</u>	<u>Med</u>	<u>M+1s</u>	<u>M+2s</u>	<u>M+3s</u>
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	0,00	42,86	35,71	7,14	14,29	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	46,86	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000 %	<i>testada não é normal</i>

ANEXO L1 – Análise estatística da presença de linfócitos nos
diferentes grupos na análise realizada cinco dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X Ca(OH) ₂	7,5000	0,1%
Iodofórmio X Controle	3,7500	1%
Iodofórmio X Tecido Normal	11,0000	0,1%
Ca(OH) ₂ X Controle	3,7500	1%
Ca(OH) ₂ X Tecido Normal	3,5000	1%
Controle X Tecido Normal	7,2500	0,1%
Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 12,3976		
Valor do X ² para 2 graus de liberdade: 12,40		
Probabilidade de Ho para esse valor: 0,61 %		
Significante ao nível de 1% (alfa =0,01)		

ANEXO M1 – Análise da distribuição amostral da presença de vasos,
após cinco dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M-3s</u>	<u>M-2s</u>	<u>M-1s</u>	<u>Med</u>	<u>M+1s</u>	<u>M+2s</u>	<u>M+3s</u>
Curva normal	0.44	5.40	24.20	39.89	24.20	5.40	0.44
Curva experimental	0.00	0.00	42,86	35,71	7,14	14,29	0.00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	44,86	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000%	<i>testada não é normal</i>

ANEXO N1 – Análise estatística da presença de vasos nos diferentes
grupos na análise realizada cinco dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X Ca(OH) ₂	7,5000	1%
Iodofórmio X Controle	4,5000	5%
Iodofórmio X Tecido Normal	10,5000	0,1%
Ca(OH) ₂ X Controle	3,0000	Ns
Ca(OH) ₂ X Tecido Normal	3,0000	Ns
Controle X Tecido Normal	6,0000	1%

Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 9,8581
 Valor do X² para 2 graus de liberdade: 9,86
 Probabilidade de Ho para esse valor: 1,98 %
 Significante ao nível de 5% (alfa =0,05)

ANEXO O1 – Análise da distribuição amostral da presença de outras estruturas, após cinco dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M-3s</u>	<u>M-2s</u>	<u>M-1s</u>	<u>Med</u>	<u>M+1s</u>	<u>M+2s</u>	<u>M+3s</u>
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	0,00	28,57	57,14	0,00	14,29	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	52,47	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000%	<i>testada não é normal</i>

ANEXO P1 – Análise estatística da presença de outras estruturas nos diferentes grupos na análise realizada cinco dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X Ca(OH) ₂	11,2500	0,1%
Iodofórmio X Controle	7,0000	1%
Iodofórmio X Tecido Normal	3,2500	Ns
Ca(OH) ₂ X Controle	4,2500	5%
Ca(OH) ₂ X Tecido Normal	8,0000	1%
Controle X Tecido Normal	3,7500	5%
Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 10,5091 Valor do X ² para 2 graus de liberdade: 10,51 Probabilidade de Ho para esse valor: 1,47 % Significante ao nível de 5% (alfa =0,05)		

ANEXO A2 – Análise da distribuição amostral da presença de células epiteliais, após onze dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M-3s</u>	<u>M-2s</u>	<u>M-1s</u>	<u>Med</u>	<u>M+1s</u>	<u>M+2s</u>	<u>M+3s</u>
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	0,00	0,00	85,00	0,00	10,00	5,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	108,73	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000 %	<i>testada não é normal</i>

ANEXO B2 – Análise estatística da presença de células epiteliais nos diferentes grupos na análise realizada onze dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X $\text{Ca}(\text{OH})_2$	1,2000	Ns
Iodofórmio X Controle	1,8000	Ns
Iodofórmio X Tecido Normal	4,2000	Ns
$\text{Ca}(\text{OH})_2$ X Controle	0,6000	Ns
$\text{Ca}(\text{OH})_2$ X Tecido Normal	3,0000	Ns
Controle X Tecido Normal	2,4000	Ns
Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 2,8182 Valor do X^2 para 2 graus de liberdade: 2,82 Probabilidade de Ho para esse valor: 42,05 % Não - significativo (alfa > 0,05)		

ANEXO C2– Análise da distribuição amostral da presença de fibras colágenas, após onze dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M-3s</u>	<u>M-2s</u>	<u>M-1s</u>	<u>Med</u>	<u>M+1s</u>	<u>M+2s</u>	<u>M+3s</u>
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	0,00	50,00	25,00	10,00	15,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	63,86	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000 %	<i>testada não é normal</i>

ANEXO D2 – Análise estatística da presença de fibras colágenas nos diferentes grupos na análise realizada onze dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X Ca(OH) ₂	5,5000	0,1%
Iodofórmio X Controle	5,0000	0,1%
Iodofórmio X Tecido Normal	9,5000	0,1%
Ca(OH) ₂ X Controle	10,5000	0,1%
Ca(OH) ₂ X Tecido Normal	15,0000	0,1%
Controle X Tecido Normal	4,5000	0,1%
Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 17,9340 Valor do X ² para 2 graus de liberdade: 17,93 Probabilidade de Ho para esse valor: 0,05 % Significante ao nível de 1% (alfa = 0,01)		

ANEXO E2 – Análise da distribuição amostral da presença de fibroblastos, após onze dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M-3s</u>	<u>M-2s</u>	<u>M-1s</u>	<u>Med</u>	<u>M+1s</u>	<u>M+2s</u>	<u>M+3s</u>
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	10,00	20,00	30,00	35,00	5,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	11,95	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	1,7700 %	<i>testada não é normal</i>

ANEXO F2 – Análise estatística da presença de fibroblastos nos diferentes grupos na análise realizada onze dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X Ca(OH) ₂	2,6667	Ns
Iodofórmio X Controle	13,0000	0,1%
Iodofórmio X Tecido Normal	7,2500	1%
Ca(OH) ₂ X Controle	10,3333	0,1%
Ca(OH) ₂ X Tecido Normal	4,5833	5%
Controle X Tecido Normal	5,7500	5%
Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 14,2440		
Valor do X ² para 2 graus de liberdade: 14,24		
Probabilidade de Ho para esse valor: 0,26 %		
Significante ao nível de 1% (alfa = 0,01)		

ANEXO G2 – Análise da distribuição amostral da presença de macrófagos, após onze dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

Intervalos de classe:	M-3s	M-2s	M-1s	Med	M+1s	M+2s	M+3s
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	10,00	10,00	40,00	40,00	0,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	27,97	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000%	<i>testada não é normal</i>

ANEXO H2 – Análise estatística da presença de macrófagos nos diferentes grupos na análise realizada onze dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X $\text{Ca}(\text{OH})_2$	2,2667	Ns
Iodofórmio X Controle	2,4000	Ns
Iodofórmio X Tecido Normal	11,6000	1%
$\text{Ca}(\text{OH})_2$ X Controle	0,1333	Ns
$\text{Ca}(\text{OH})_2$ X Tecido Normal	9,3333	1%
Controle X Tecido Normal	9,2000	1%
Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 9,7791 Valor do X^2 para 2 graus de liberdade: 9,78 Probabilidade de Ho para esse valor: 2,05 % Significante ao nível de 5% (alfa = 0,05)		

ANEXO I2 – Análise da distribuição amostral da presença de neutrófilos, após onze dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M-3s</u>	<u>M-2s</u>	<u>M-1s</u>	<u>Med</u>	<u>M+1s</u>	<u>M+2s</u>	<u>M+3s</u>
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	20,00	0,00	40,00	35,00	5,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	68,52	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000 %	<i>testada não é normal</i>

ANEXO J2 – Análise estatística da presença de neutrófilos nos diferentes grupos na análise realizada onze dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X Ca(OH) ₂	1,1833	Ns
Iodofórmio X Controle	6,9000	1%
Iodofórmio X Tecido Normal	7,4000	1%
Ca(OH) ₂ X Controle	5,7167	5%
Ca(OH) ₂ X Tecido Normal	8,5833	1%
Controle X Tecido Normal	14,3000	0,1%
Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 13,3859		
Valor do X ² para 2 graus de liberdade: 13,39		
Probabilidade de Ho para esse valor: 0,39 %		
Significante ao nível de 1% (alfa = 0,01)		

ANEXO K2 – Análise da distribuição amostral da presença de linfócitos,
após onze dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M-3s</u>	<u>M-2s</u>	<u>M-1s</u>	<u>Med</u>	<u>M+1s</u>	<u>M+2s</u>	<u>M+3s</u>
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	0,00	35,00	30,00	20,00	15,00	0,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	30,47	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000 %	<i>testada não é normal</i>

ANEXO L2 – Análise estatística da presença de linfócitos nos
diferentes grupos na análise realizada onze dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X Ca(OH) ₂	4,5833	1%
Iodofórmio X Controle	5,1000	1%
Iodofórmio X Tecido Normal	10,5000	0,1%
Ca(OH) ₂ X Controle	9,6833	0,1%
Ca(OH) ₂ X Tecido Normal	5,9167	0,1%
Controle X Tecido Normal	15,6000	0,1%
Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 17,3464 Valor do X ² para 2 graus de liberdade: 17,35 Probabilidade de Ho para esse valor: 0,06 % Significante ao nível de 1% (alfa = 0,01)		

ANEXO M2 – Análise da distribuição amostral da presença de vasos,
após onze dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

Intervalos de classe:	M-3s	M-2s	M-1s	Med	M+1s	M+2s	M+3s
Curva normal	0.44	5.40	24.20	39.89	24.20	5.40	0.44
Curva experimental	0.00	0,00	50,00	15,00	25,00	10,00	0.00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	52,38	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0.0000 %	<i>testada não é normal</i>

ANEXO N2 – Análise estatística da presença de vasos nos diferentes
grupos na análise realizada onze dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X Ca(OH) ₂	12,1667	0,1%
Iodofórmio X Controle	0,0000	Ns
Iodofórmio X Tecido Normal	7,5000	0,1%
Ca(OH) ₂ X Controle	12,1667	0,1%
Ca(OH) ₂ X Tecido Normal	4,6667	0,1%
Controle X Tecido Normal	7,5000	0,1%
Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 18,5036 Valor do X ² para 2 graus de liberdade: 18,50 Probabilidade de Ho para esse valor: 0,03 % Significante ao nível de 1% (alfa = 0,01)		

ANEXO O2 – Análise da distribuição amostral da presença de outras estruturas, após onze dias de intervenção nos diferentes grupos

Teste de aderência curva normal: Valores originais °

A. Freqüências por intervalos de classe:°

<u>Intervalos de classe:</u>	<u>M-3s</u>	<u>M-2s</u>	<u>M-1s</u>	<u>Med</u>	<u>M+1s</u>	<u>M+2s</u>	<u>M+3s</u>
Curva normal	0,44	5,40	24,20	39,89	24,20	5,40	0,44
Curva experimental	0,00	0,00	50,00	20,00	20,00	5,00	5,00

B. Cálculo do Qui quadrado:

Graus de liberdade :	4	Interpretação
Valor do Qui quadrado :	43,58	<i>A distribuição amostral</i>
Probabilidade de Ho :	0,0000%	<i>testada não é normal</i>

ANEXO P2 – Análise estatística da presença de outras estruturas nos diferentes grupos na análise realizada onze dias após a intervenção.

Comparação entre médias dos postos das amostras		
Amostras comparadas	Diferença entre as médias	Significância
Iodofórmio X $\text{Ca}(\text{OH})_2$	11,6667	0,1%
Iodofórmio X Controle	0,0000	Ns
Iodofórmio X Tecido Normal	5,5000	0,1%
$\text{Ca}(\text{OH})_2$ X Controle	11,6667	0,1%
$\text{Ca}(\text{OH})_2$ X Tecido Normal	6,1667	0,1%
Controle X Tecido Normal	5,5000	0,1%

Valor (H) de Kruskal-Wallis calculado: 17,2539
 Valor do χ^2 para 2 graus de liberdade: 17,25
 Probabilidade de Ho para esse valor: 0,06 %
 Significante ao nível de 1% (alfa = 0,01)