

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM ENDODONTIA**

CARINA STAUDT FOLLMANN

**ANÁLISE LOCAL E SISTÊMICA DAS REAÇÕES TISSULARES A DIFERENTES
MATERIAIS UTILIZADOS EM PULPOTOMIAS: ESTUDO EM RATOS.**

Porto Alegre

2011

CARINA STAUDT FOLLMANN

**ANÁLISE LOCAL E SISTÊMICA DAS REAÇÕES TISSULARES A DIFERENTES
MATERIAIS UTILIZADOS EM PULPOTOMIAS: ESTUDO EM RATOS.**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos obrigatórios para obtenção do título de Mestre em Endodontia pelo Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Linha de pesquisa: Etiopatogênese e tratamento das doenças periodontais e periapicais.

Orientador: Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber

Porto Alegre

2011

CARINA STAUDT FOLLMANN

**ANÁLISE LOCAL E SISTÊMICA DAS REAÇÕES TISSULARES A DIFERENTES
MATERIAIS UTILIZADOS EM PULPOTOMIAS: ESTUDO EM RATOS.**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos obrigatórios para obtenção do título de Mestre em Endodontia pelo Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Aprovada em ____ de _____ de 2011.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Fernando Borba de Araújo

Prof. Dr. José Antônio Poli de Figueiredo

Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber

Porto Alegre

2011

Dedico esta dissertação aos meus
pais, pelo amor incondicional...

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por minha vida e por todas as graças.

Aos meus pais, Alexius e Teresinha, pela minha vida, pela minha formação pessoal e profissional, pelo incentivo nos estudos, pela força em todos os momentos. Os meus irmãos e eu tivemos tudo o que precisamos porque vocês trabalharam muito para isso.

Aos meus irmãos Alexandra e César, cunhados Marcelo e Sabrina, por todo apoio e carinho. Aos meus afilhadinhos queridos Leonardo e Mariana, vocês são luz na vida da dinda!

Ao meu orientador querido, Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber, pela paciência, disponibilidade, orientação e comprometimento neste trabalho, e confiança a mim depositada. A tua empolgação em relação ao tema deste trabalho foi realmente muito contagiante!!!

Às professoras Dra. Maria Martha Campos e Dra. Adriana Etges, por toda ajuda, fazendo que este trabalho fosse possível.

Ao professores Dr. João Batista Blessmann Weber, Dr. José Antônio Poli de Figueiredo e Dra. Marília Gerhardt de Oliveira, agradeço pelo carinho na fase mais difícil do mestrado, quando fiz o trancamento do curso, em 2009.

Aos meus professores do curso de pós-graduação: Dr. José Antônio Poli de Figueiredo, Dra. Maria Martha Campos, Dra. Patrícia Poli, Dr. Eraldo Batista Junior, Dr. João Batista Weber, Dra. Fabiana Vieira Vier-Pelisser, Dra. Marília Gerhardt de Oliveira, Dr. Mario Wagner, pela dedicação e ensinamentos científico-intelectuais.

À secretaria da Pós-Graduação: Ana Prestes, Cláudia Reginato, Davenir Bruschi, Marcos Correa e Paulo da Silva, pela disponibilidade e acolhimento.

À PUCRS, pela oportunidade de realizar um curso tão qualificado.

À colega Alessandra Trindade, pela parceria total durante a pesquisa. Ale... muito, muito obrigada!!!!

Aos meus queridos colegas de curso, Alessandra Trindade, Andrea Fredrich, Carlos Wolle, Caroline Marca, Charles Pereira, Claudia Wagner, Deborah Cogo, Fernanda Lopes, Grasiela Grundling, Janaina Kufner, Kathrein Tapia, Larissa Klassmann, Lenara Dondoni, Marília Burgel, Matheus Souza, Pabla Sechi, Renata Morgental e Roberta Scarparo, que ao meu lado estiveram, pelas boas risadas, pela amizade e cumplicidade. Simplesmente inesquecível!!!!

À colega Andréa Fredrich, agradeço imensamente pela estadia em Pelotas. Aos Carlos Wolle e Marcello Vannucci, obrigada pela parceria em Pelotas.

Aos queridos Maiko Deffaveri e Paula Ávila, por toda a ajuda na formatação do trabalho.

A todos que de uma maneira ou outra me ajudaram no Mestrado, muito obrigada.

SUMÁRIO

1.RESUMOS	8
2.INTRODUÇÃO	10
3.ARTIGO	13
4.DISSCUSSÃO	26
5.REFERÊNCIAS	31
ANEXOS	35
ANEXO A: PARECER COMITÊ DE ÉTICA.....	35
ANEXO B: ANÁLISES ESTATÍSTICAS	36
ANEXO C: FIGURAS	50

RESUMO

Introdução: O objetivo deste estudo foi avaliar, em ratos, a reação do tecido conjuntivo subcutâneo, e dos órgãos fígado e rim, a materiais utilizados em pulpotomias: agregado trióxido mineral (MTA), pasta de hidróxido de cálcio (HC) e formocresol (FC). **Métodos:** Tubos de polietileno vazios (grupo controle) e contendo os materiais de teste foram implantados no tecido subcutâneo de 46 ratos. Após 7 e 21 dias, as observações no dorso foram feitas para alterações inflamatórias, condensação fibrosa, formação de abscesso e corpo estranho e, no fígado e rim, foram avaliadas esteatose, apoptose, inflamação, alterações vasculares e hiperplasticidade. Comparações entre os grupos e períodos de tempo foram feitas usando o teste de Kruskal-Wallis, Post-hoc e Mann-Whitney. **Resultados:** Os grupos MTA e HC mostraram um comportamento semelhante ao do grupo controle, nas alterações inflamatórias em 21 dias, ao contrário do grupo FC, o qual apresentou diferença estatisticamente significativa em relação aos outros grupos. No grupo FC, não houve formação de cápsula fibrosa e houve formação de abscesso, em 21 dias. Em todos os grupos, alterações no fígado e rim foram observadas. **Conclusão:** Os grupos MTA e HC mostraram um comportamento similar em todos os eventos analisados. O grupo FC apresentou resultados não favoráveis. Foram observadas alterações tissulares no fígado e rim.

Palavras-chave: Pulpotomia, formaldeído, hidróxido de cálcio, MTA, testes de materiais.

ABSTRACT

Introduction: The aim of this study was to evaluate the subcutaneous connective tissue reaction and the organs liver and kidney to mineral trioxide aggregate (MTA), paste of calcium hidroxyde (CH) and formocresol (FC). **Methods:** Polyethylene tubes containing the test materials and empty tubes (control group) were implanted in the subcutaneous tissue of 46 rats. After 7 and 21 days, observations on back were made for inflammatory alterations, fibrous condensation, abscess formation and foreign body, and, on liver and kidney, were made for steatosis, apoptosis, inflammation, vascular changes and hipercellularity. Comparisons between groups and periods of time were made using the Kruskal-Wallis, Post-hoc and Mann-Whitney tests. **Results:** MTA and CH groups showed a behavior similar in inflammatory alterations to that of the control group in 21days, in contrast of FC group that presented statistically significant difference to that of other groups. In FC group, there was no formation of fibrous capsule and formation of abscess, in 21 days. In all groups, alterations in liver and kidney were observed. **Conclusion:** MTA and CH groups showed a behavior similar in all evaluated events. FC group presented unfavorable results. Tissue alterations were observed in liver and kidney.

Key words: Pulpotomy, formaldehyde, calcium hydroxide, MTA, materials testing.

1 INTRODUÇÃO

O diagnóstico e tratamento de dentes decíduos com lesões de cáries extensas representam um desafio para o odontopediatra, em função da complexidade em obter um diagnóstico pulpar preciso e também pelas dificuldades comuns no manejo do paciente. A terapia pulpar na dentição decídua inclui algumas opções de tratamento, dependendo do grau de saúde pulpar e seu estágio de inflamação, os quais determinarão a escolha do tratamento pulpar mais adequado(1).

A pulpotomia em dentes decíduos é um procedimento preconizado quando o tecido pulpar coronário é exposto por lesões de cáries, durante remoção de cáries ou trauma. A polpa coronária infectada ou inflamada é amputada, mantendo o tecido pulpar radicular vital e não infectado(2). A técnica da pulpotomia inclui um medicamento utilizado para a cicatrização do coto pulpar(1). O tratamento pulpar pode ser realizado por eletrocirurgia, *laser* Er:YAG, além da utilização de fármacos como formocresol, hidróxido de cálcio, glutaraldeído, solução enriquecida com colágeno, sulfato férrico ou MTA (Agregado de Trióxido Mineral)(2). O material ideal para a polpa radicular deve ser: (1) bactericida, (2) inofensivo para a polpa e estruturas adjacentes, (3) promover a cicatrização da polpa radicular, (4) não interferir no processo fisiológico da reabsorção. Entretanto, esse material ideal para a pulpotomia ainda não foi identificado(3) e, embora muitas técnicas vem sendo propostas, não há evidência em determinar a mais apropriada(2).

O Formocresol tem sido o material mais comumente utilizado em pulpotomias nos últimos 60 anos(4,5,6). Atualmente, o formocresol diluído, na proporção 1:5 tem sido o mais utilizado(7). Suas apresentações comerciais consistem de 19% de formaldeído, 35% de cresol, 15% de glicerina (veículo) e 100cc de água destilada q.s.p.(1).

A resposta histológica da polpa radicular ao formocresol ser não favorável(3). Após a aplicação da medicação, ocorre a fixação no terço coronário da polpa radicular e inflamação crônica no terço médio, mantendo o tecido vital apenas no terço apical(8). O tecido pulpar remanescente, ocasionalmente, fica parcialmente ou

totalmente necrosado(9). Geralmente, a polpa fica com áreas necróticas e vitais com inflamação crônica(10). Apesar do questionamento a respeito da segurança e eficácia do formocresol, com provável potencial imunogênico e mutagênico, o formocresol continua sendo o tratamento de eleição das pulpotomias em dentes decíduos(11,12). Estudos clínicos e radiográficos têm mostrado que o sucesso de pulpotomias com formocresol alcançam índices entre 70 e 97%(3). Ainda há questionamento quanto a sua utilização devido a uma possível distribuição sistêmica após pulpotomia(4).

O formocresol contém formaldeído, o qual apresenta provável potencial citotóxico, mutagênico e, de acordo com o grupo Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), há evidências suficientes por experimentos, tanto em animais quanto em humanos, que o formaldeído é carcinogênico, relacionado com tumores malignos de naso-faringe(14). A medicação também contém cresol, relacionado com efeitos negativos por induzir danos ao DNA celular(15).

O hidróxido de cálcio foi proposto como uma alternativa ao formocresol para pulpotomias de dentes decíduos em 1962 e foi o primeiro agente a mostrar a habilidade para induzir regeneração dentinária. Como material branco, cristalino, altamente alcalino e levemente solúvel, o hidróxido de cálcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) dissocia-se em cálcio e íons hidroxila em solução. Os íons cálcio reagem com o dióxido de carbono do tecido produzindo áreas de mineralização. Esse processo leva ao acúmulo de fibronectina, o que permite a adesão celular e diferenciação, resultando em formação de ponte de dentina. Para que essa mineralização ocorra, o $\text{Ca}(\text{OH})_2$ deve estar em contato direto com o tecido. Inicialmente, a zona necrótica é formada adjacente ao $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Após, a ponte de dentina é formada diretamente contra a zona necrótica ou esta é reabsorvida ou substituída por ponte de dentina. As pulpotomias com $\text{Ca}(\text{OH})_2$ alcançam sucesso de até 70%(9). Quando em contato com o tecido pulpar de dentes com pulpotomia, este material apresenta características favoráveis(16).

O MTA é um pó composto por silicato tricálcio, óxido de bismuto, silicato dicálcio, aluminato tricálcico, alumínio ferrítico tetracálcico e sulfato de cálcio

diidratado(4). O mecanismo pelo qual o MTA induz a formação de ponte de dentina pode ser similar ao do hidróxido de cálcio(17), porém parece ser mais eficaz(18,19,20). Entre as propriedades favoráveis do MTA estão a alta alcalinidade, potencial bactericida, promove excelente selamento(19,21,22), biocompatibilidade(17,18,19,21,23,24,25,26), não é reabsorvível e tem alta resistência à compressão(23). O MTA mantém a integridade pulpar após o capeamento pulpar e pulpotomia sem efeito citotóxico(4).

Biocompatibilidade é definida pela capacidade do material obter uma resposta biológica apropriada quando aplicada a um corpo. O fato de um dado material ser biocompatível (ou não) vai depender da função física que o material deverá cumprir e também de sua resposta biológica(24). Muitos métodos têm sido usados para avaliar as respostas tissulares a materiais endodônticos. Um dos métodos mais praticados e largamente utilizados é a implantação do material no tecido conjuntivo subcutâneo de roedores. O efeito irritativo dos materiais é avaliado através de exame histopatológico da resposta tissular ao redor dos implantes(27). A aplicação de materiais no tecido conjuntivo subcutâneo de animais objetiva a reprodução de reações do tecido conjuntivo periapical(24).

A literatura é escassa quando o assunto é a distribuição de componentes de materiais endodônticos em órgãos longe do sítio de utilização. É interessante e importante investigar a influência dos compostos utilizados sobre a translocação e eliminação nos vários tecidos (por exemplo, fígado, rins, cérebro e útero), já que esses órgãos são muito importantes na função fisiológica normal do organismo(27).

3. ARTIGO

Analysis of local and systemic tissue reactions to different materials used in pulpotomies: study in rats.

Carina Staudt Follmann^a ; BDS; Alessandra César Trindade^a ; BDS, MSc; Maria Martha Campos^a ; MSc, PhD; Adriana Etges^b ; MSc, PhD; João Batista Blessmann Weber^a ; BDS, MSc, PhD.

^a ; Department of Endodontics, Post-Graduate Program, School of Dentistry, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Brazil;

^b ; Department of Diagnosis of Oral Diseases, Post-Graduate Program, School of Dentistry, Federal University of Pelotas (UFPEL), Pelotas, Brazil;

Address correspondence to:

João Batista Blessmann Weber

Pos Graduate Program in Dentistry

Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul – PUCRS, Porto Alegre, Brazil

Corresponding address:

Av. Ipiranga 6681 Prédio 6 sala 206

CEP 90619-900 Porto Alegre – RS – Brazil

Phone: 55 51 3320 3538

E-mail address: jbbweber@terra.com.br

Analysis of local and systemic tissue reactions to different materials used in pulpotomies: study in rats.

ABSTRACT

Introduction: The aim of this study was to evaluate the subcutaneous connective tissue reaction and the organs liver and kidney to mineral trioxide aggregate (MTA), paste of calcium hydroxide (CH) and formocresol (FC). **Methods:** Polyethylene tubes containing the test materials and empty tubes (control group) were implanted in the subcutaneous tissue of 46 rats. After 7 and 21 days, observations on back were made for inflammatory alterations, fibrous condensation, abscess formation and foreign body, and, on liver and kidney, were made for steatosis, apoptosis, inflammation, vascular changes and hypercellularity. Comparisons between groups and periods of time were made using the Kruskal-Wallis, Post-hoc and Mann-Whitney tests. **Results:** MTA and CH groups showed a behavior similar in inflammatory alterations to that of the control group in 21 days, in contrast of FC group that presented statistically significant difference to that of other groups. In FC group, there was no formation of fibrous capsule and formation of abscess, in 21 days. In all groups, alterations in liver and kidney were observed. **Conclusion:** MTA and CH groups showed a behavior similar in all evaluated events. FC group presented unfavorable results. Tissue alterations were observed in liver and kidney.

Key words: Pulpotomy, formaldehyde, calcium hydroxide, MTA, materials testing.

Introduction

Formocresol (FC) has been a popular pulpotomy medicament in the primary dentition for the past 60 years(1,2). FC is considered as the gold standard dressing agent for pulpotomy therapy(1,3), but concerns about its safety have arisen recently(1,2). Formocresol contains formaldehyde, a toxic, potentially carcinogenic/mutagenic compound, and concern has arisen over its use in dentistry. Evidence of local and systemic distribution exists to support these concerns. As a consequence, other medicaments have been evaluated(4). Research into alternatives is not only welcome but absolutely essential(5).

Many studies indicated that calcium hydroxide and calcium hydroxide compounds can be employed in primary teeth(6,7). However, many disadvantages have been listed with the use of calcium hydroxide material. Presence of tunnels in dentin barrier, extensive dentin formation obliterating the pulp chamber, high solubility in oral fluids, and lack of adhesion and degradation after acid etching are some of the limitations reported(6, 8, 9, 10). Mineral trioxide aggregate (MTA) has recently attracted attention in pediatric dentistry for pulpotomy treatment because of its excellent sealing ability(11, 12), its biocompatibility(11, 13, 14), and its ability to stimulate hard tissue formation(11, 15).

In the absence of a consensus regarding the best material to be used in pulpotomy(16) and unknown about some alteration in normal physiological function of systemic organs, the purpose of this study was to observe the reaction of rat subcutaneous connective tissue to the implantation of polyethylene tubes filled with formocresol, calcium hydroxide and MTA and its impact on systemic organs like liver and kidney.

Material and Methods

The present study was approved by the Ethics in Research with Animals Committee of the Pontifical University of Rio Grande do Sul, Brazil (protocol n. 10/00192). A total of 46 animals (*Rattus norvegicus albinus* Wistar) with 7 weeks were used. They were divided into two experimental periods (7 and 21 days). The inflammatory reactions were evaluated in four study groups: group 1, control group (empty tube); group 2, White MTA® (Angelus Soluções Odontológicas, Londrina, PR,

Brasil); group 3, Calcium Hydroxide – CH - (Farmácia Universitária PUCRS – Panvel); and group 4, Formocresol – FC - (Instituto de Química – UFRGS).

The animals were anesthetized with 0.008 mL/100 g of ketamine and 0.004 mL/100 g of xylazine hydrochloride 2% (Virbac do Brasil Indústria e Comércio Ltda, São Paulo, SP, Brazil). A dorsal trichotomy was manually performed, and the area was disinfected with alcohol-iodine solution. A 0.5-cm-long incision was made in the animal's back, 2 cm from the spine. Using blunt-tipped scissors, the lateral tearing of the subcutaneous tissue provided the surgical cavity. Polyethylene tubes, 10 mm long and 1.5 mm in diameter (Abott Lab do Brasil, São Paulo, SP, Brazil), were autoclaved before they were used to implant the materials. MTA was prepared in accordance to the manufacturers' instructions and introduced into their respective tubes using sterile insulin syringes (Injex Indústria Cirúrgica Ltda, Ourinhos, SP, Brazil). The paste of calcium hydroxide was made with powder of calcium hydroxide and propilenoglicol. The FC was placed in pieces of sterilized cotton previously standartized. The tubes filled with the materials were inserted into the surgical cavities parallel to the incision. The position in which each material was implanted was standardized. The incisions were closed using a 4-0 silk thread (Johnson & Johnson Produtos Profissionais Ltda, São José dos Campos, SP, Brazil).

At the end of each experimental period, the animals were killed by overdose isoflurane. Trichotomy was performed once more, and an excisional biopsy of the implant area was performed with a safety margin of 1 cm. The resulting specimens were placed on paper discs and fixed in formalin at 10% for 24 hours. Regarding other organs, like liver and kidney, it was made an incision in the belly of rat and the organs were removed and fixed in formalin at 10% for 24 hours. Then, set in paraffin blocks and marked by means of a code, ensuring the results would be read blind. Sections of back were cut transversely of each tube and sections of liver and kidney were cut along the axis of each organ, with a thickness of 4 μ m, mounted on slides, and stained with hematoxylin and eosin.

Two sections were evaluated per sample. The slices were examined under a light microscope by one calibrated and blind examiner. Slides of back were analyzed qualitatively for cellular inflammatory component, classified as: (0) absent, (1) chronic, and (2) acute, determined by the presence, or not, of neutrophils, lymphocytes and plasmacytes, eosinophils, macrophages, and giant cells.

Inflammation level was classified according to the following scale: (1) absent: inflammation was either absent or within blood vessels, (2) mild: cells were present although sparse or in reduced clusters, (3) moderate: cells were present but did not dominate the microscopic field, and (4) intense: cells were present in the form of an infiltrate close to the material used. Fibrous condensation was classified according to the criteria described by Figueiredo et al.(17), following the scale: (1) absence of collagen fibers, (2) presence of a thin layer of collagen fibers, and (3) presence of a thick layer of collagen fibers. Abscess formation was classified according to the criteria described by Figueiredo et al.(17), as follows: (1) absence of abscess, (2) presence of abscess in contact with the surgical cavity where the material had been inserted, and (3) presence of abscess areas far from the surgical cavity where the material had been inserted. The foreign body was classified: (0) absent, (1) present.

Regarding the slides of liver, events like micro and macrovesicular steatosis, were analysed qualitatively according to the criteria described by Cornianu et al.(18) and classified according to the following scale: (0) absent, (1) mild, (2) moderate, and (3) severe. Other events presented in the slides of liver like vascular congestion, apoptosis and inflammation were classified: (0) absent or (1) present. Regarding the valuation of kidney, the events evaluated were vascular congestion and hipercellularity, classified as: (0) absent or (1) present.

The nonparametric Kruskal-Wallis test was used to compare the variables between study groups, given that this study examined independent samples. Whenever statistically significant differences were observed, the Kruskal-Wallis test was supplemented with the Multiple Comparison test. When the variables were evaluated across the different experimental periods, the Mann-Whitney U test was used. The significance level was set at .05.

Results

The comparison of events occurred in back in the different study groups can be seen in Table 1. Formation of fibrous capsule in control group in 21 days can be seen in Figure 1 – A. MTA and CH groups showed a behavior similar in inflammatory alterations to that of the control group in 21days, in contrast of FC group that presented statistically significant difference to that other groups. In FC group, there was no formation of fibrous capsule and formation of abscess, in 21

days (Figure 1 – D). The comparison of events occurred in liver and kidney in the different study groups can be seen in Table 2. Hipercellularity occurred in FC group, as early as 7 days, with statistically significant difference of that of control group. Vascular congestion, in 21 days MTA group, can be seen in Figure 1 – B and micro and macrovesicular steatosis, in 21 days CH group can be seen in Figure 1 – C. About other events, there were no statistically significant difference, since the events occurred similarly in both 7 and 21 days, probably, the sample size limited the study.

Discussion

The methodology used here allowed the assessment of tissue reactions in animal models, which is an indispensable step to complete material examination. The area chosen to carry out the surgical procedure brought the materials in direct contact with tissues that are similar to those they will be close to when applied clinically. The application of sealers to the subcutaneous connective tissue of animals aims at reproducing the reactions of periapical connective tissue(19).

Although studies about FC demonstrate high clinical and radiographic success rates, several histological reports have described the presence of a chronic inflammatory process(1). In this research, the group that was used formocresol showed, in addition to chronic inflammation, acute process, including abscess formation in 21 days, with statistically significant difference to that produced by control group. Another significant difference occurred in inflammatory alterations, with unfavorable results in FC group.

It was also observed, in some specimens of control, MTA and CH groups, that a fibrous capsule was formed, limiting the inflammatory reaction to those areas near the implants and making evident the capacity of the organism to restrain the extension of the damage on the tissue, as corroborated by other studies(13,19, 20,21). In the group that was used FC, the fibrous capsule was not formed in 21 days.

All specimens, in groups of MTA and paste of CH, showed foreign calcified body in contact with tissues, with the presence of macrophages and giant cells. These particles might induce calcification similar to what occurs with dentin chips, their presence could have been responsible for retarding the healing process of

Ca(OH)₂, although controversy exists as to whether these particles that have been accidentally forced into the pulp promote or retard healing(6). This present study demonstrates a similar behavior of these two materials in inflammatory alterations, as corroborated by other research(22), equivalent to those produced by control group in 21 days.

In this study, it was evident that, due to the use of materials, there have been changes in systemic organs studied, liver and kidney. In the liver, was observed, in all groups, microvesicular steatosis, a degenerative phenomenon that, if not removed the pathogenic agent, leads to formation macrovesicular steatosis(23). In some cases, it was also possible to observe inflammation, apoptosis and vascular congestion.

In kidneys, it was possible to observe vascular congestion and hipercellularity, which can be regarded as degenerative phenomenon(23). The unfavorable results were concentrated in the FC group, as early as 7 days, the events were evident and remained until the evaluation in 21 days. Again, it was not possible to ensure that these changes are irreversible, since both the kidney and the liver, have a considerable capacity for regeneration(24). Studies with longer experimental times must be made to help elucidate these questions.

In summary, what do endodontists and pediatric dentists agree on? The survey data appear to indicate that the pediatric dentistry and endodontic communities alike agree that formocresol will be replaced as a primary tooth pulpotomy agent(25). This study corroborates this idea; MTA and CH can be considered, at the moment, the materials of choice to take its place.

References

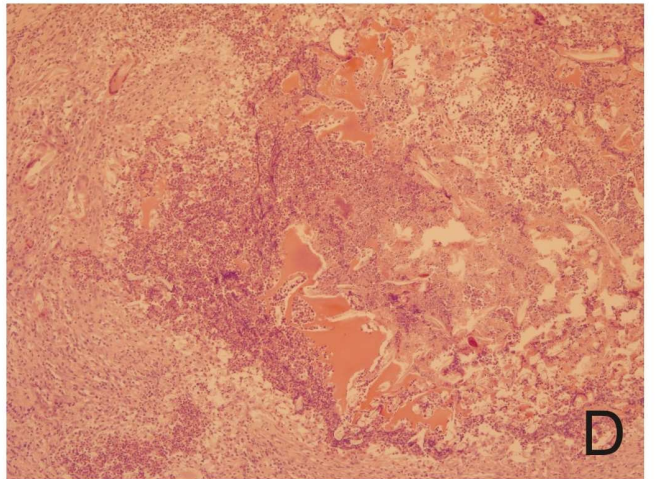
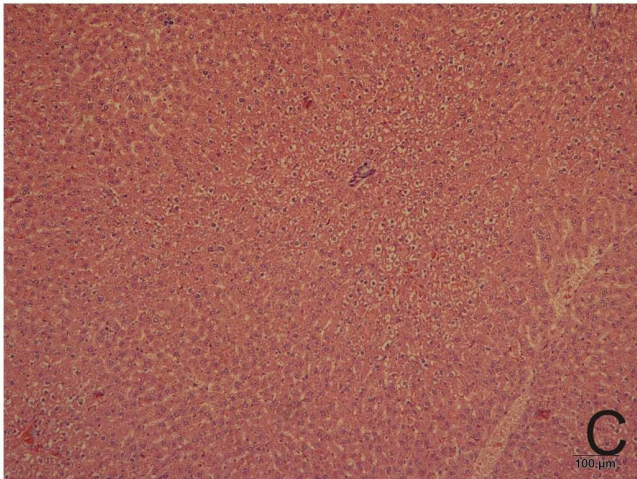
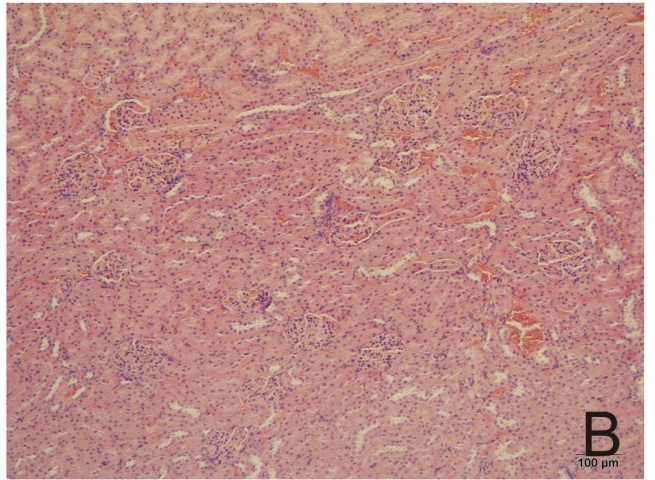
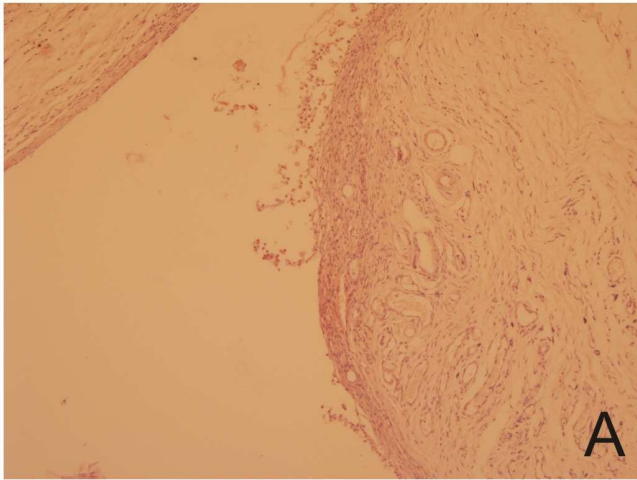
1. Moretti ABS, Sakai VT, Oliveira TM, Fornetti APC, Santos CF, Machado MAAM, Abdo RCC. The effectiveness of mineral trioxide aggregate, calcium hydroxide and formocresol for pulpotomies in primary teeth. *Int End J*, 2008;41:547–555.
2. Peng L, Ye L, Tan H, Zhou X. Evaluation of the formocresol versus mineral trioxide aggregate primary molar pulpotomy: a meta-analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2006;102:e40-e44.
3. Sabbarini J, Mohamed A, Wabba N, El-Meligy O, Dean J. Comparision of enamel matrix derivative versus formocresol as pulpotomy agents in the primary dentition. *J Endod* 2008;34(3):284-287.

4. Waterhouse P, Nunn J, Whitworth J. An investigation of the relative efficacy of Buckley's Formocresol and calcium hydroxide in primary molar vital pulp therapy. *Brit Dent J*, 2000;188(1):32-36.
5. Milnes AR. Is Formocresol Obsolete? A Fresh Look at the Evidence Concerning Safety Issues. *J Endod* 2008;34(7s):s40-s46.
6. Accorinte MLR, Holland R, Reis A, Bortoluzzi MC, Murata SS, D E, Souza V, Alessandro LD. Evaluation of mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide cement as pulp-capping agents in human teeth. *J Endod* 2008;34(1):1-6.
7. Alaçam A, Odabas ME, Tüzüner T, Silleliog˘lu H, Baygın O. Clinical and radiographic outcomes of calcium hydroxide and formocresol pulpotomies performed by dental students. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;108:e127-e133.
8. Cox CF, Subay RK, Ostro E, Suzuki S, Suzuki SH. Tunnel defects in dentin bridges: their formation following direct pulp capping. *Oper Dent* 1006;21:4-11.
9. Cox CF, Hafez AA, Akimoto N, Otsuki M, Suzuki S, Tarim B. Biocompatibility of primer, adhesive and resin composite systems on non-exposed and exposed pulps of non-human primate teeth. *Am J Dent* 1998;11:S55-63.
10. Cox Cf, Tarim B, Kopel H, Gurel G, Hafez A. Technique sensitivity: biological factors contributing to clinical success with various restorative materials. *Adv Dent Tes* 1998;5:85-90.
11. Shayegan A, Petein M, Abbeele A. Beta-tricalcium phosphate, white mineral trioxide aggregate, white Portland cement, ferric sulfate, and formocresol used as pulpotomy agents in primary pig teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105:536-542.
12. Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *J Endod* 1993;19:591-595.
13. Cintra LT, Moraes IG, Estrada BP, et al. Evaluation of the tissue response to MTA and MBPC: Microscopic analysis of implants in alveolar bone of rats. *J Endod* 2006;32:556-559.
14. Holland R, de Souza V, Nery MJ, et al. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tube filled with mineral trioxide aggregate, Portland cement or calcium hydroxide. *Braz Dent J* 2001;12:3-8.
15. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 1999;25:197-205.

16. Hingston EJ, Parmar S, Hunter ML. Vital pulpotomy in the primary dentition: attitudes and practices of community dental staff in Wales. *International Journal of Paediatric Dentistry* 2007;17;186–191.
17. Figueiredo JA, Pesce HF, Gioso MA, et al. The histological effects of four endodontic sealers implanted in the oral mucosa: submucous injection versus implant in polyethylene tubes. *Int Endod J* 2001;34:377–85.
18. Cornianu M, Dema A, Täban S, et al. Hepatic steatosis associated with hepatitis C virus infection. *Romanian Journal of Morphology and Embryology* 2005;46(4):283–289.
19. Scarparo R, Haddad D, Acasigua G, Fossati A, Fachin E, Grecca F. Mineral Trioxide Aggregate-based sealer: analysis of tissue reactions to a new endodontic material. *J Endod* 2010;1-5.
20. Wucherpfennig AL, Green DB. Mineral trioxide vs Portland cement: two biocompatible filling materials. *J Endod* 1999;25:308.
21. Sumer M, Muglali M, Bodrumlu E, et al. Reactions of connective tissue to amalgam, intermediate restorative material, mineral trioxide aggregate, and mineral trioxide aggregate mixed with chlorhexidine. *J Endod* 2006;32:1094–6.
22. Holland R, de Souza V, Nery MJ, et al. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tube filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. *J Endod* 1999;25(3):161-166.
23. Pathologic basis of disease. Cotran R, Kumar V, Robbins S, Schoen F. 5th edition. Philadelphia, Pennsylvania, 1994.
24. Histologia texto e atlas. Michael H. Ross e Lynn J. Romrell. Editora Médica Panamericana. 2ª edição. São Paulo, 1993.
25. Seale NS, Glickman GN. Contemporary Perspectives on Vital Pulp Therapy: Views from the Endodontists and Pediatric Dentists. *J Endod* 2008;34(7s):s57-s61.

LIST OF FIGURES

FIGURE 1: A: Control Group – Back - 21 days (presence of fibrous capsule). B: MTA Group – Kidney – 21 days (presence of vascular congestion). C: CH Group - Liver – 21 days (presence of micro and macrovesicular steatosis). D: FC Group – Back – 21 days (presence of moderate acute inflammatory reaction and abscess formation).



TABLES

1. TABLE REFERRING THE ANALYSED EVENTS OF BACK IN GROUPS ACROSS EXPERIMENTAL PERIODS OF 7 AND 21 DAYS.

	EVENT	SCALE	CONTROL	MTA	CH	FC
7 DAYS	CEL. INFLAM.	0	1	0	0	0
		1	4	6	5	3
		2	0	0	1	3
TOTAL			5	6	6	6
MEAN						
RANK			8,60	10,50	12,33	16
21 DAYS	CEL. INFLAM.	0	4	1	1	0
		1	1	5	5	2
		2	0	0	0	4
TOTAL			5	6	6	6
MEAN						
RANK			5,40 ^B	11,42	11,42	18,67 ^A
7 DAYS	INFLAM. LEVEL	1	1	0	0	0
		2	4	1	0	1
		3	0	5	3	4
		4	0	0	3	1
TOTAL			5	6	6	6
MEAN						
RANK			3,80 ^B	12,00 ^A	17,50 ^A	13,33 ^A
21 DAYS	INFLAM. LEVEL	1	0	0	1	0
		2	5	5	2	0
		3	0	1	3	4
		4	0	0	0	2
TOTAL			5	6	6	6
MEAN						
RANK			7,50 ^B	9,17 ^B	11,42 ^B	19,16 ^A
7 DAYS	FIBROUS COND.	1	3	4	5	5
		2	2	2	1	1
		3	0	0	0	0
TOTAL			5	6	6	6
MEAN						
RANK			13,60	12,83	10,92	10,92
21 DAYS	FIBROUS COND.	1	0	3	3	6
		2	5	2	2	0
		3	0	1	1	0
TOTAL			5	6	6	6
MEAN						
RANK			17,00 ^A	12,67	12,67	6,50 ^B
7 DAYS	ABS	1	5	6	6	5
		2	0	0	0	1

TOTAL MEAN RANK			5	6	6	6
21 DAYS	ABS	1	11,50	11,50	11,50	13,42
		2	5	6	6	2
			0	0	0	4
TOTAL MEAN RANK			5	6	6	6
7 DAYS	FOREIGN BODY	0	10,00	10,00 ^B	10,00 ^B	17,67 ^A
		1	5	0	0	1
			0	6	6	5
TOTAL MEAN RANK			5	6	6	6
21 DAYS	FOREIGN BODY	0	3,50 ^B	15,00 ^A	15,00 ^A	13,08 ^A
		1	5	0	0	0
			0	6	6	6
TOTAL MEAN RANK			5	6	6	6
			3,00 ^B	14,50 ^A	14,50 ^A	14,50 ^A

Mean ranks followed by different superscript letters are significantly different, $p < 0,05$.

2. TABLE REFERRING THE ANALYSED EVENTS OF LIVER AND KIDNEY IN GROUPS ACROSS EXPERIMENTAL PERIODS OF 7 AND 21 DAYS.

	EVENT	SCALE	CONTROL	MTA	CH	FC
7 DAYS	MICROV.	0	2	0	1	1
		1	3	6	5	2
		2	0	0	0	3
TOTAL MEAN RANK			5	6	6	6
21 DAYS	MICROV.	0	8,50	12,5	10,83	15,58
		1	1	0	1	1
		2	4	5	5	4
			0	1	0	1
TOTAL MEAN RANK			5	6	6	6
7 DAYS	MACROV.	0	10,40	14,17	10,75	12,42
		1	5	5	5	3
		2	0	1	1	2
			0	0	0	1
TOTAL MEAN RANK			5	6	6	6
21 DAYS	MACROV.	0	9,50	11,33	11,33	15,42
		1	5	5	3	4
		2	0	1	3	2
			0	0	0	0
TOTAL MEAN RANK			5	6	6	6
7 DAYS	HEP. VASC.	0	9,00	10,92	14,75	12,83
		1	5	4	3	3
			0	2	3	3

TOTAL			5	6	6	6
MEAN RANK			8,00	11,83	13,75	13,75
21 DAYS	HEP. VASC.	0	5	2	4	4
		1	0	4	2	2
TOTAL			5	6	6	6
MEAN RANK			8,00	15,67	11,83	11,83
7 DAYS	APOPT.	0	5	6	6	6
		1	0	0	0	0
TOTAL			5	6	6	6
MEAN RANK			12,00	12,00	12,00	12,00
21 DAYS	APOPT.	0	4	6	6	5
		1	1	0	0	1
TOTAL			5	6	6	6
MEAN RANK			13,30	11,00	11,00	12,92
7 DAYS	HEP. INF.	0	5	6	6	6
		1	0	0	0	0
TOTAL			5	6	6	6
MEAN RANK			12,00	12,00	12,00	12,00
21 DAYS	HEP. INF.	0	3	5	6	6
		1	2	1	0	0
TOTAL			5	6	6	6
MEAN RANK			15,10	12,42	10,50	10,50
7 DAYS	REN. VASC.	0	5	5	6	3
		1	0	1	0	3
TOTAL			5	6	6	6
MEAN RANK			10,00	11,92	10,00	15,75
21 DAYS	REN. VASC.	0	1	4	5	2
		1	4	2	1	4
TOTAL			5	6	6	6
MEAN RANK			15,70	10,33	8,42	14,17
7 DAYS	HIPERC.	0	4	4	3	0
		1	1	2	3	6
TOTAL			5	6	6	6
MEAN RANK			8,30 ^B	9,83	11,75	17,50 ^A
21 DAYS	HIPERC.	0	5	3	3	1
		1	0	3	3	5
TOTAL			5	6	6	6
MEAN RANK			6,50	12,25	12,25	16,08

Mean ranks followed by different superscript letters are significantly different, $p < 0,05$.

4. DISCUSSÃO

A pulpotomia de dentes decíduos não somente é o tratamento endodôntico mais frequente realizado em crianças, como também é bastante controverso(60). Muitos estudos mostram que o formocresol é o material mais utilizado neste procedimento, podendo ser considerado como padrão ouro(4,5,6,28). Em outros estudos, o hidróxido de cálcio ou materiais contendo hidróxido de cálcio podem ser considerados como standard nos casos de pulpotomias, porém em dentes permanentes(29).

As principais desvantagens do MTA incluem o potencial de descoloração, presença de elementos tóxicos na composição do material, dificuldade de manipulação, longo período de presa, alto custo, ausência de solvente para este material e dificuldade de remoção após presa. Esforços tem sido feitos para ultrapassar essas deficiências; porém, adicionando ou removendo elementos para amenizar esses defeitos, as características ideais do MTA também podem ser alteradas. Introduzir novos componentes ao MTA exigem investigações abrangentes. Novas formulações devem ser testadas in vitro, bem como as condições in vivo antes de sua aplicação em humanos(30).

Diversas desvantagens podem ser listadas para o uso de materiais contendo hidróxido de cálcio, como presença de túneis na barreira de dentina, formação de dentina obliterando a câmara pulpar, alta solubilidade nos fluidos orais e perda de adesividade e degradação depois do ataque ácido(6,29,31,32,33). Outra

desvantagem relacionada com o hidróxido de cálcio é a formação de reabsorção interna(3).

As desvantagens do FC estão relacionadas com a inflamação extensa produzida quando em contato com o tecido pulpar(8), além dos questionamentos quanto a sua segurança, com provável potencial tóxico e sistêmico(11,12). Ainda é bastante usado em muitas escolas de ensino odontológico e estabelecimentos de saúde, além de ser amplamente comercializado(34). Entretanto, o formocresol, medicamento que resulta em desvitalização do coto pulpar, continua sendo o medicamento mais difundido entre os dentistas, a primeira escolha para terapia pulpar em dentes decíduos e a técnica ensinada não só na maioria das faculdades de Odontologia brasileiras(35), como também em nível mundial(36).

O formol, também conhecido por formaldeído, formalina ou aldeído fórmico, é uma substância permitida na legislação de cosméticos apenas para conservar produtos, na concentração máxima de 0,2%(37). A substância é adicionada aos produtos durante o processo de fabricação, na indústria, e não depois que o produto já está pronto. Qualquer outro uso fora dessas finalidades e concentrações acarreta sérios riscos à saúde da população(38). A adição de formol a um produto acabado, pronto para uso, constitui infração sanitária, estando o estabelecimento que adota esta prática sujeito às sanções administrativas, cíveis e penais cabíveis, sendo que adulteração desses produtos configura crime hediondo. Foi publicada a Resolução RDC 36, em junho de 2009, que proíbe a comercialização do formol em estabelecimentos como drogarias, farmácias, supermercados, empórios, lojas de conveniências e drugstores. A finalidade dessa resolução é restringir o acesso da população ao formol(37). Entretanto, ainda não há consenso quanto à concentração permitida em outros produtos, inclusive no formocresol utilizado na prática odontológica.

Comparando algumas propriedades do MTA com o hidróxido de cálcio, é possível observar alguma similaridade entre os 2 materiais, principalmente pela deposição de tecido mineralizado(39). De acordo com Faraco e Holland, em estudos histológicos, estes dois materiais em contato com tecido pulpar, mostram,

inicialmente, a presença de uma camada de tecido necrótico, provavelmente pela alta alcalinidade dos produtos, com pH entre 9-10(29), o que fica evidenciado neste presente estudo, no qual foi possível observar, nos dois grupos e diferentes tempos experimentais, material calcificado em contato com o tecido subcutâneo.

A metodologia aplicada neste estudo, a qual utiliza tubos de polietileno com materiais teste, é amplamente utilizada em pesquisas(26); o contato do material a ser analisado com o tecido conjuntivo subcutâneo do animal visa reproduzir as reações do tecido conjuntivo perapical(24). Não foram encontrados estudos histológicos com a mesma metodologia e materiais utilizados no presente estudo. No grau de inflamação, os grupos com os materiais teste apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle, no tempo experimental de 7 dias. Já em 21 dias, para este mesmo evento, o grupo FC apresentou resultados desfavoráveis, com diferença estatística significativa em relação aos outros grupos, ao contrário dos grupos MTA e HC que apresentaram comportamento similar àquele do grupo controle. Houve diferença estatisticamente significativa no grupo HC ao longo do tempo experimental (p 0,026), havendo uma atenuação do processo inflamatório, ficando semelhante àquele ocorrido com os grupos controle e MTA, o que corrobora com outra pesquisa realizada por Holland et al.(39).

Foi possível classificar o evento inflamatório como crônico ou agudo, dependendo dos tipos celulares encontrados nos espécimes. Em 7 dias, todos os grupos teste apresentaram resposta semelhante ao grupo controle, porém, em 21 dias, o grupo FC apresentou resultados estatisticamente significantes em relação ao grupo controle (p 0,001), por apresentar resposta predominantemente aguda, inclusive com formação de abscesso, havendo diferença com o grupo MTA (p 0,05) e HC (p 0,05). Estudo como o de Moretti et al.(28) relata que o processo inflamatório ocasionado pelo uso do formocresol é crônico.

No evento analisando a formação de cápsula fibrosa, é possível observar que, novamente, os grupos MTA e HC apresentaram resultados similares em relação ao grupo controle, com formação de condensação fibrosa ao redor dos implantes, mostrando a capacidade do organismo em restringir a extensão do dano tecidual,

corroborando com outros estudos(24,25,39,41,42). No grupo FC, a condensação fibrosa não foi formada em 21 dias.

Foi possível observar que os materiais utilizados neste estudo causaram alterações no órgão fígado, porém sem diferença estatisticamente significativa com o grupo controle. Todos os grupos com os materiais teste mostraram esteatose microvesicular, um fenômeno degenerativo que, se o agente patogênico não for removido, pode levar a formação de esteatose macrovesicular(43). Também foi possível observar em alguns espécimes inflamação, apoptose e alterações vasculares. Mesmo sem haver diferença estatística significativa em relação aos outros grupos, o FC apresentou uma tendência desfavorável, em 7 dias, nos eventos esteatose micro e macrovesicular.

Em geral, há poucas gotículas lipídicas nos hepatócitos que, contudo, aumentam muito após a ingestão de certas substâncias tóxicas. Não é comum encontrar células em processo de divisão no fígado normal e, no entanto, esse órgão tem uma capacidade de regeneração impressionante. O fígado também pode regenerar o seu parênquima após a destruição devido às substâncias tóxicas(44).

No rim, as alterações observadas foram congestão vascular e hiperplasticidade. A hiperplasticidade é a proliferação celular, tornando o tecido do córtex renal mais denso, podendo ser considerada como fenômeno degenerativo(43). Os resultados não favoráveis foram encontrados no grupo FC, o qual apresentou, já em 7 dias, diferença estatisticamente significativa (p 0,045) em relação ao grupo controle. O FC apresentou tendência desfavorável, mas não significativa em relação a outros grupos, nos eventos de congestão renal, em 7 e 21 dias, e hiperplasticidade em 21 dias.

Com o teste estatístico Mann-Whitney, o qual compara os tempos experimentais em cada grupo, foi possível constatar que os eventos analisados no fígado e rim foram semelhantes, tanto em 7 quanto em 21 dias. Possivelmente, o número reduzido de animais por grupo e o tempo experimental restringido em 21 dias limitou a análise ao longo do tempo experimental.

Não é possível afirmar que as alterações encontradas nos órgãos sejam irreversíveis, já que o fígado e rim apresentam capacidade de regeneração considerável(44), como já foi anteriormente mencionado. Não foram encontrados, na literatura, estudos relatando a influência dos materiais utilizados em pulpotomias em relação aos vários tecidos. Então, tais pesquisas, com tempos experimentais mais longos, tornam-se necessárias para ajudar a elucidar essas questões.

Como a pulpotomia torna-se necessária com o intuito de manter dentes decíduos quando não é possível realizar tratamentos de mínima invasão à polpa, um consenso entre os endodontistas e odontopediatras é proposto, quanto ao tipo de material ao ser usado no procedimento. Há a indicação do MTA ou HC ser usado como material de escolha ao invés do formocresol, que deve ser substituído(45). Como foi exposto, ainda não existe um material com características ideais(3), porém o MTA, por todas as suas características de biocompatibilidade torna-se, no momento, o material mais indicado para pulpotomias(20,22). Outros estudos tornam-se necessários para elucidar as questões pertinentes a esse assunto.

5. REFERÊNCIAS

1. Stona P, Poletto VC, Weber, JBB. Análise química do formocresol após simulação de uso em clínica. *Pesq Bras Odontoped Clin Integ*, 2009;9(2):155-159.
2. Peng L, Ye L, Tan H, Zhou X. Evaluation of the formocresol versus mineral trioxide aggregate primary molar pulpotomy: a meta-analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2006;102:e40-e44.
3. Sonmez D, Sari S, Çetinbas T. Comparison of four pulpotomy techniques in primary molars. *J Endod* 2008;34(8):950-955.
4. Peng L, Ye L, Guo X, Tan H, Zhou X, Wang C, Li R. Evaluation of formocresol versus ferric sulphate primary molar pulpotomy: a systematic review and meta-analysis. *Int End J*, 2007;40:751–757.
5. Alaçam A, Odabas ME, Tüzüner T, Silleliog˘lu H, Baygın O. Clinical and radiographic outcomes of calcium hydroxide and formocresol pulpotomies performed by dental students. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;108:e127-e133.
6. Sabbarini J, Mohamed A, Wabba N, El-Meligy O, Dean J. Comparison of enamel matrix derivative versus formocresol as pulpotomy agents in the primary dentition. *J Endod* 2008;34(3):284-287.
7. Yoon RK, Chussid S, Davis MJ, Bruckman KC. Preferred treatment methods for primary tooth vital pulpotomies. A survey. *N Y State Dent J* 2008;74(2):47-9.
8. Berger JE. Pulp tissue reaction to formocresol and zinc oxide-eugenol. *ASDC J Dent Child* 1965;32:13–28.
9. van Amerongen WE, Mulder GR, Vinderling PA. Consequences of endodontic treatment in primary teeth part 1: a clinical and radiographic study of the influence of formocresol pulpotomy on the life-span of primary molars. *ASDC J Dent Child* 1986;53:364 –70.
10. Ranly DM. Pulpotomy therapy in primary teeth: new modalities for old rationales. *Pediatr Dent* 1994;16:403–9.

11. Block RM, Lewis RD, Sheats JB, Burke SG. Antibody formation to dog pulp tissue altered by formocresol within the root canal. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1978; 45:282–92.
12. Casas MJ, Kenny DJ, Judd PL, Johnston DH. Do we still need formocresol in pediatric dentistry? *J Can Dent Assoc* 2005;71:749 –51.
13. Nair PN, Duncan HF, Pitt Ford TR, Luder HU. Histological, ultrastructural and quantitative investigations on the response of healthy human pulps to experimental capping with mineral trioxide aggregate: a randomized controlled trial. *Int Endod J* 2008;41(2):128-50.
14. Aeinehchi M, Dadvand S, Fayazi S, Bayat-Movahed S. Randomized controlled trial of mineral trioxide aggregate and formocresol for pulpotomy in primary molar teeth. *International Endodontic Journal*, 2007;40:261–267.
15. Silva GN, Camargo EA, Salvadori DMF, Ribeiro DA. Genetic damage in human peripheral lymphocytes exposed to antimicrobial endodontic agents. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;104:e58-e61.
16. Sübay RK, Suzuki S, Suzuki S, Kaya H, Cox CF. Human pulp response after partial pulpotomy with two calcium hydroxide products. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995;80:330-337.
17. Asgary S, Eghbal MJ, Parirokh M, Ghanavati F, Rahimi H. A comparative study of histologic response to different pulp capping materials and a novel endodontic cement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;106(4):609-14.
18. Agamy HA, Bakry NS, Mounir MMF, Avery DR. Comparison of mineral trioxide aggregate and formocresol as pulp-capping agents in pulpotomized primary teeth. *Pediatr Dent* 2004;26(4):302-309.
19. Shayegan A, Petain M, Abbeele A. Beta-tricalcium phosphate, white mineral trioxide aggregate, white Portland cement, ferric sulfate, and formocresol used as pulpotomy agents in primary pig teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105:536-542.
20. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 1999;25:197-205.
21. Ribeiro DA. Do endodontic compounds induce genetic damage? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105:251-256.
22. Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *J Endod* 1993;19:591-595.

23. Bogen G, Kim JS, Bakland LK. Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate: an observational study. *J Am Dent Assoc* 2008;139(3):305-15; quiz 305-15.
24. Scarparo R, Haddad D, Acasigua G, Fossati A, Fachin E, Grecca F. Mineral Trioxide Aggregate-based sealer: analysis of tissue reactions to a new endodontic material. *J Endod* 2010;1-5.
25. Cintra LT, Moraes IG, Estrada BP, et al. Evaluation of the tissue response to MTA and MBPC: Microscopic analysis of implants in alveolar bone of rats. *J Endod* 2006;32:556-559.
26. Holland R, de Souza V, Nery MJ, et al. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tube filled with mineral trioxide aggregate, Portland cement or calcium hydroxide. *Braz Dent J* 2001;12:3-8.
27. Economides N, Kotsaki-Kovatsi V, Pouloupoulos A, Kolokuris I, Rozos G, Shore, R. Experimental study of the biocompatibility of four root canal sealers and their influence on the zinc and calcium content of several tissues. *J Endod* 1995;21(3):122-127.
28. Moretti ABS, Sakai VT, Oliveira TM, Fornetti APC, Santos CF, Machado MAAM, Abdo RCC. The effectiveness of mineral trioxide aggregate, calcium hydroxide and formocresol for pulpotomies in primary teeth. *Int End J*, 2008;41:547–555.
29. Accorinte MLR, Holland R, Reis A, Bortoluzzi MC, Murata SS, D E, Souza V, Alessandro LD. Evaluation of mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide cement as pulp-capping agents in human teeth. *J Endod* 2008;34(1):1-6.
30. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review—Part III: Clinical Applications, Drawbacks, and Mechanism of Action. *J Endod* 2010;36(3):400-413.
31. Cox CF, Subay RK, Ostro E, Suzuki S, Suzuki SH. Tunnel defects in dentin bridges: their formation following direct pulp capping. *Oper Dent* 1006;21:4-11.
32. Cox CF, Hafez AA, Akimoto N, Otsuki M, Suzuki S, Tarim B. Biocompatibility of primer, adhesive and resin composite systems on non-exposed and exposed pulps of non-human primate teeth. *Am J Dent* 1998;11:S55-63.
33. Cox Cf, Tarim B, Kopel H, Gurel G, Hafez A. Technique sensitivity: biological factors contributing to clinical success with various restorative materials. *Adv Dent Tes* 1998;5:85-90.
34. <http://www.maquira.com.br/uploads/produtos/downloads/20110316110114.pdf>
35. Kramer PF, Faraco Junior IM, Feldens CA. Estudo Atual da Terapia Pulpar Nas Universidades Brasileiras-Pulpotomia e Pulpectomia em Dentes Decíduos. *J Bras Odontopediatr Odontol Bebê* 2000;3(13):222-230.

36. Eildelman E, Hakan G, Fuks AB. Mineral trioxide aggregate vs. formocresol in pulpotomized primary molars: a preliminary report. *Pediatr Dent* 2001;23(1):15-18.
37. http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/alisantes/escova_progressiva.htm
38. http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/material/Folder_%20Alisantes_Formol.pdf
39. Holland R, de Souza V, Nery MJ, et al. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tube filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. *J Endod* 1999;25(3):161-166.
40. Sabbarini J, Mohamed A, Wahba N, El-Meligy O, Dean J. Comparison of enamel matrix derivative versus formocresol as pulpotomy agents in the primary dentition. *J Endod* 2008;34(3):284-287.
41. Wucherpfennig AL, Green DB. Mineral trioxide vs Portland cement: two biocompatible filling materials. *J Endod* 1999;25:308.
42. Sumer M, Muglali M, Bodrumlu E, et al. Reactions of connective tissue to amalgam, intermediate restorative material, mineral trioxide aggregate, and mineral trioxide aggregate mixed with chlorhexidine. *J Endod* 2006;32:1094-6.
43. Pathologic basis of disease. Cotran R, Kumar V, Robbins S, Schoen F. 5th edition. Philadelphia, Pennsylvania, 1994.
44. Histologia texto e atlas. Michael H. Ross e Lynn J. Romrell. Editora Médica Panamericana. 2ª edição. São Paulo, 1993.
45. Seale NS, Glickman GN. Contemporary Perspectives on Vital Pulp Therapy: Views from the Endodontists and Pediatric Dentists. *J Endod* 2008;34(7s):s57-s61.

ANEXOS

A.PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

		Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA PARA O USO DE ANIMAIS
Ofício 189/10 – CEUA		Porto Alegre, 02 de dezembro de 2010.
Senhor Pesquisador:		
O Comitê de Ética para o Uso de Animais apreciou e aprovou seu protocolo de pesquisa, registro CEUA 10/00192, intitulado: "Análise da reação tecidual local e sistêmica a diferentes materiais utilizados em pulpotomias: estudo em ratos" .		
Sua investigação está autorizada a partir da presente data.		
Atenciosamente,		
		
Prof.ª. Dra. Anamária Gonçalves Feijó Coordenadora do CEUA – PUCRS		
Ilmo. Sr. Prof. Dr. João Batista Weber N/Universidade		
	Campus Central Av. Ipiranga, 6690 – Prédio 60, sala 314 CEP: 90610-000 Fone/Fax: (51) 3320-3345 E-mail: ceua@pucrs.br	

ANEXO B. ESTATÍSTICA

```

GET DATA /TYPE=XLS
  /FILE='F:\Resultados\banco.xls'
  /SHEET=name 'Plan1'
  /CELLRANGE=full
  /READNAMES=on
  /ASSUMEDSTRWIDTH=32767.
DATASET NAME DataSet1 WINDOW=FRONT.
SORT CASES BY Grupo .
SPLIT FILE
  LAYERED BY Grupo .
CROSSTABS
  /TABLES=grau_inf BY Tempo
  /FORMAT= AVALUE TABLES
  /CELLS= COUNT
  /COUNT ROUND CELL .

```

Crosstabs

[DataSet1]

grau_inf * Tempo Crosstabulation

Count

Grupo		Tempo		Total
		7	21	
1	grau_inf 1	1	0	1
	2	4	5	9
	Total	5	5	10
2	grau_inf 2	1	5	6
	3	5	1	6
	Total	6	6	12
3	grau_inf 1	0	1	1
	2	0	2	2
	3	3	3	6
	4	3	0	3
	Total	6	6	12
4	grau_inf 2	1	0	1
	3	4	4	8
	4	1	2	3
	Total	6	6	12

```

NPAR TESTS
  /M-W= grau_inf BY Tempo(7 21)
  /MISSING ANALYSIS.

```

NPar Tests

[DataSet1]

Mann-Whitney Test

Ranks

Grupo	Tempo	N	Mean Rank	Sum of Ranks
1	grau_inf	7	5,00	25,00
		21	6,00	30,00
	Total	10		
2	grau_inf	7	8,50	51,00
		21	4,50	27,00
	Total	12		
3	grau_inf	7	8,75	52,50
		21	4,25	25,50
	Total	12		
4	grau_inf	7	5,67	34,00
		21	7,33	44,00
	Total	12		

Test Statistics^b

Grupo		grau_inf
1	Mann-Whitney U	10,000
	Wilcoxon W	25,000
	Z	-1,000
	Asymp. Sig. (2-tailed)	,317
	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,690 ^a
2	Mann-Whitney U	6,000
	Wilcoxon W	27,000
	Z	-2,211
	Asymp. Sig. (2-tailed)	,027
	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,065 ^a
3	Mann-Whitney U	4,500
	Wilcoxon W	25,500
	Z	-2,331
	Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,026 ^a
4	Mann-Whitney U	13,000
	Wilcoxon W	34,000
	Z	-.962
	Asymp. Sig. (2-tailed)	,336
	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,485 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Tempo

```

SORT CASES BY Tempo .
SPLIT FILE
  LAYERED BY Tempo .
NPAR TESTS
  /K-W=grau_inf BY Grupo(1 4)
  /MISSING ANALYSIS.

```

NPar Tests

[DataSet1]

Kruskal-Wallis Test

Ranks

Tempo	Grupo	N	Mean Rank
7	1	5	3,80
	2	6	12,00
	3	6	17,50
	4	6	13,33
	Total	23	
21	1	5	7,50
	2	6	9,17
	3	6	11,42
	4	6	19,17
	Total	23	

Test Statistics^{a,b}

Tempo		grau_inf
7	Chi-Square	13,732
	df	3
	Asymp. Sig.	,003
21	Chi-Square	12,234
	df	3
	Asymp. Sig.	,007

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Grupo

```

CROSSTABS
  /TABLES=microv BY Grupo
  /FORMAT= AVALUE TABLES
  /CELLS= COUNT
  /COUNT ROUND CELL .

```

Crosstabs

[DataSet1]

microv. * Grupo Crosstabulation

Count

Tempo		Grupo				Total
		1	2	3	4	
7	microv. 0	2	0	1	1	4
	1	3	6	5	2	16
	2	0	0	0	3	3
	Total	5	6	6	6	23
21	microv. 0	1	0	1	1	3
	1	4	5	5	4	18
	2	0	1	0	1	2
	Total	5	6	6	6	23

```

RECODE
  corpo_est (2=1) .
EXECUTE .
NPAR TESTS
  /K-W=cel_inf cond_fib abs corpo_est microv macrov cong_1 apopt inflam
  cong_2 hipercel BY Grupo(1 4)
  /MISSING ANALYSIS.

```

NPar Tests

[DataSet1]

Kruskal-Wallis Test**Ranks**

Tempo	Grupo	N	Mean Rank	
7	cel_inf	1	5	8,60
		2	6	10,50
		3	6	12,33
		4	6	16,00
		Total	23	
	cond_fib	1	5	13,60
		2	6	12,83
		3	6	10,92
		4	6	10,92
		Total	23	
	abs	1	5	11,50
		2	6	11,50
		3	6	11,50
		4	6	13,42
		Total	23	
	corpo_est	1	5	3,50
		2	6	15,00
		3	6	15,00
		4	6	13,08
		Total	23	
	microv.	1	5	8,50
		2	6	12,50
		3	6	10,83
4		6	15,58	
Total		23		
macrov.	1	5	9,50	
	2	6	11,33	
	3	6	11,33	
	4	6	15,42	
	Total	23		
cong_1	1	5	8,00	
	2	6	11,83	
	3	6	13,75	
	4	6	13,75	
	Total	23		
apopt	1	5	12,00	
	2	6	12,00	
	3	6	12,00	
	4	6	12,00	
	Total	23		
inflam	1	5	12,00	
	2	6	12,00	
	3	6	12,00	
	4	6	12,00	
	Total	23		
cong_2	1	5	10,00	
	2	6	11,92	
	3	6	10,00	
	4	6	15,75	
	Total	23		

Ranks

Tempo	Grupo	N	Mean Rank	
7	hiper cel	1	5	8,30
		2	6	9,83
		3	6	11,75
		4	6	17,50
	Total	23		
21	cel_inf	1	5	5,40
		2	6	11,42
		3	6	11,42
		4	6	18,67
	Total	23		
	cond_fib	1	5	17,00
		2	6	12,67
		3	6	12,67
		4	6	6,50
	Total	23		
	abs	1	5	10,00
		2	6	10,00
		3	6	10,00
		4	6	17,67
	Total	23		
	corpo_est	1	5	3,00
		2	6	14,50
		3	6	14,50
		4	6	14,50
	Total	23		
	microv.	1	5	10,40
		2	6	14,17
		3	6	10,75
4		6	12,42	
Total	23			
macrov.	1	5	9,00	
	2	6	10,92	
	3	6	14,75	
	4	6	12,83	
Total	23			
cong_1	1	5	8,00	
	2	6	15,67	
	3	6	11,83	
	4	6	11,83	
Total	23			
apopt	1	5	13,30	
	2	6	11,00	
	3	6	11,00	
	4	6	12,92	
Total	23			
inflam	1	5	15,10	
	2	6	12,42	
	3	6	10,50	
	4	6	10,50	
Total	23			
cong_2	1	5	15,70	
	2	6	10,33	
	3	6	8,42	
	4	6	14,17	
Total	23			

Ranks

Tempo	Grupo	N	Mean Rank	
21	hipercel	1	5	6,50
		2	6	12,25
		3	6	12,25
		4	6	16,08
	Total	23		

Test Statistics^{a,b}

Tempo		cel_inf	cond_fib	abs	corpo_est	microv.	macrov.
7	Chi-Square	7,072	1,165	2,833	17,866	4,895	4,489
	df	3	3	3	3	3	3
	Asymp. Sig.	,070	,761	,418	,000	,180	,213
21	Chi-Square	13,310	8,485	13,123	22,000	2,153	3,810
	df	3	3	3	3	3	3
	Asymp. Sig.	,004	,037	,004	,000	,541	,283

Test Statistics^{a,b}

Tempo		cong_1	apopt	inflam	cong_2	hiper cel
7	Chi-Square	3,728	,000	,000	6,465	8,072
	df	3	3	3	3	3
	Asymp. Sig.	,292	1,000	1,000	,091	,045
21	Chi-Square	5,133	2,322	4,852	5,517	7,306
	df	3	3	3	3	3
	Asymp. Sig.	,162	,508	,183	,138	,063

- a. Kruskal Wallis Test
- b. Grouping Variable: Grupo

```
CROSSTABS
  /TABLES=grau_inf BY Grupo
  /FORMAT= AVALUE TABLES
  /CELLS= COUNT
  /COUNT ROUND CELL .
```

Crosstabs

[DataSet1]

Case Processing Summary

Tempo	grau_inf * Grupo	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
7	grau_inf * Grupo	23	100,0%	0	,0%	23	100,0%
21	grau_inf * Grupo	23	100,0%	0	,0%	23	100,0%

grau_inf * Grupo Crosstabulation

Count

Tempo	grau_inf	Grupo				Total
		1	2	3	4	
7	1	1	0	0	0	1
	2	4	1	0	1	6
	3	0	5	3	4	12
	4	0	0	3	1	4
	Total	5	6	6	6	23
21	1	0	0	1	0	1
	2	5	5	2	0	12
	3	0	1	3	4	8
	4	0	0	0	2	2
	Total	5	6	6	6	23

```
SORT CASES BY Grupo .
SPLIT FILE
  LAYERED BY Grupo .
NPAR TESTS
  /M-W= cel_inf cond_fib abs corpo_est microv macrov cong_1 apopt inflam
  cong_2 hiper cel BY Tempo(7 21)
  /MISSING ANALYSIS.
```

NPar Tests

[DataSet1]

Mann-Whitney Test

Ranks

Grupo	Tempo	N	Mean Rank	Sum of Ranks	
1	cel_inf	7	7,00	35,00	
		21	4,00	20,00	
		Total	10		
	cond_fib	7	5	4,00	20,00
		21	5	7,00	35,00
		Total	10		
	abs	7	5	5,50	27,50
		21	5	5,50	27,50
		Total	10		
	corpo_est	7	5	5,50	27,50
		21	5	5,50	27,50
		Total	10		
	microv.	7	5	5,00	25,00
		21	5	6,00	30,00
		Total	10		
	macrov.	7	5	5,50	27,50
		21	5	5,50	27,50
		Total	10		
	cong_1	7	5	5,50	27,50
		21	5	5,50	27,50
Total		10			
apopt	7	5	5,00	25,00	
	21	5	6,00	30,00	
	Total	10			
inflam	7	5	4,50	22,50	
	21	5	6,50	32,50	
	Total	10			
cong_2	7	5	3,50	17,50	
	21	5	7,50	37,50	
	Total	10			
hipercl	7	5	6,00	30,00	
	21	5	5,00	25,00	
	Total	10			
2	cel_inf	7	7,00	42,00	
		21	6,00	36,00	
		Total	12		
	cond_fib	7	6	5,83	35,00
		21	6	7,17	43,00
		Total	12		
	abs	7	6	6,50	39,00
		21	6	6,50	39,00
		Total	12		
	corpo_est	7	6	6,50	39,00
		21	6	6,50	39,00
		Total	12		
	microv.	7	6	6,00	36,00
		21	6	7,00	42,00
		Total	12		
	macrov.	7	6	6,50	39,00
		21	6	6,50	39,00
		Total	12		
	cong_1	7	6	5,50	33,00
		21	6	7,50	45,00
Total		12			

Ranks

Grupo	Tempo	N	Mean Rank	Sum of Ranks		
2	apopt	7	6	6,50	39,00	
		21	6	6,50	39,00	
		Total	12			
	inflam	7	6	6,00	36,00	
		21	6	7,00	42,00	
		Total	12			
	cong_2	7	6	6,00	36,00	
		21	6	7,00	42,00	
		Total	12			
	hipercl	7	6	6,00	36,00	
		21	6	7,00	42,00	
		Total	12			
3	cel_inf	7	6	7,42	44,50	
		21	6	5,58	33,50	
		Total	12			
	cond_fib	7	6	5,42	32,50	
		21	6	7,58	45,50	
		Total	12			
	abs	7	6	6,50	39,00	
		21	6	6,50	39,00	
		Total	12			
	corpo_est	7	6	6,50	39,00	
		21	6	6,50	39,00	
		Total	12			
	microv.	7	6	6,50	39,00	
		21	6	6,50	39,00	
		Total	12			
	macrov.	7	6	5,50	33,00	
		21	6	7,50	45,00	
		Total	12			
	cong_1	7	6	7,00	42,00	
		21	6	6,00	36,00	
		Total	12			
	apopt	7	6	6,50	39,00	
		21	6	6,50	39,00	
		Total	12			
	inflam	7	6	6,50	39,00	
		21	6	6,50	39,00	
		Total	12			
	cong_2	7	6	6,00	36,00	
		21	6	7,00	42,00	
		Total	12			
	hipercl	7	6	6,50	39,00	
		21	6	6,50	39,00	
		Total	12			
	4	cel_inf	7	6	6,00	36,00
			21	6	7,00	42,00
			Total	12		
cond_fib		7	6	7,00	42,00	
		21	6	6,00	36,00	
		Total	12			
abs		7	6	5,00	30,00	
		21	6	8,00	48,00	
		Total	12			

Ranks

Grupo	Tempo	N	Mean Rank	Sum of Ranks	
4	corpo_est	7	6,00	36,00	
		21	7,00	42,00	
		Total	12		
	microv.	7	6	7,33	44,00
		21	6	5,67	34,00
		Total	12		
	macrov.	7	6	7,17	43,00
		21	6	5,83	35,00
		Total	12		
	cong_1	7	6	7,00	42,00
		21	6	6,00	36,00
		Total	12		
apopt	7	6	6,00	36,00	
	21	6	7,00	42,00	
	Total	12			
inflam	7	6	6,50	39,00	
	21	6	6,50	39,00	
	Total	12			
cong_2	7	6	6,00	36,00	
	21	6	7,00	42,00	
	Total	12			
hipercl	7	6	7,00	42,00	
	21	6	6,00	36,00	
	Total	12			

Test Statistics^b

Grupo		cel_inf	cond_fib	abs	corpo_est	microv.	macrov.
1	Mann-Whitney U	5,000	5,000	12,500	12,500	10,000	12,500
	Wilcoxon W	20,000	20,000	27,500	27,500	25,000	27,500
	Z	-1,800	-1,964	,000	,000	-,655	,000
	Asymp. Sig. (2-tailed)	,072	,050	1,000	1,000	,513	1,000
	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,151 ^a	,151 ^a	1,000 ^a	1,000 ^a	,690 ^a	1,000 ^a
2	Mann-Whitney U	15,000	14,000	18,000	18,000	15,000	18,000
	Wilcoxon W	36,000	35,000	39,000	39,000	36,000	39,000
	Z	-1,000	-,730	,000	,000	-1,000	,000
	Asymp. Sig. (2-tailed)	,317	,465	1,000	1,000	,317	1,000
	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,699 ^a	,589 ^a	1,000 ^a	1,000 ^a	,699 ^a	1,000 ^a
3	Mann-Whitney U	12,500	11,500	18,000	18,000	18,000	12,000
	Wilcoxon W	33,500	32,500	39,000	39,000	39,000	33,000
	Z	-1,354	-1,251	,000	,000	,000	-1,173
	Asymp. Sig. (2-tailed)	,176	,211	1,000	1,000	1,000	,241
	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,394 ^a	,310 ^a	1,000 ^a	1,000 ^a	1,000 ^a	,394 ^a
4	Mann-Whitney U	15,000	15,000	9,000	15,000	13,000	14,000
	Wilcoxon W	36,000	36,000	30,000	36,000	34,000	35,000
	Z	-,561	-1,000	-1,682	-1,000	-,874	-,730
	Asymp. Sig. (2-tailed)	,575	,317	,093	,317	,382	,465
	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,699 ^a	,699 ^a	,180 ^a	,699 ^a	,485 ^a	,589 ^a

Test Statistics^b

Grupo		cong_1	apopt	inflam	cong_2	hipercel
1	Mann-Whitney U	12,500	10,000	7,500	2,500	10,000
	Wilcoxon W	27,500	25,000	22,500	17,500	25,000
	Z	,000	-1,000	-1,500	-2,449	-1,000
	Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000	,317	,134	,014	,317
	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 ^a	,690 ^a	,310 ^a	,032 ^a	,690 ^a
2	Mann-Whitney U	12,000	18,000	15,000	15,000	15,000
	Wilcoxon W	33,000	39,000	36,000	36,000	36,000
	Z	-1,106	,000	-1,000	-,638	-,561
	Asymp. Sig. (2-tailed)	,269	1,000	,317	,523	,575
	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,394 ^a	1,000 ^a	,699 ^a	,699 ^a	,699 ^a
3	Mann-Whitney U	15,000	18,000	18,000	15,000	18,000
	Wilcoxon W	36,000	39,000	39,000	36,000	39,000
	Z	-,561	,000	,000	-1,000	,000
	Asymp. Sig. (2-tailed)	,575	1,000	1,000	,317	1,000
	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,699 ^a	1,000 ^a	1,000 ^a	,699 ^a	1,000 ^a
4	Mann-Whitney U	15,000	15,000	18,000	15,000	15,000
	Wilcoxon W	36,000	36,000	39,000	36,000	36,000
	Z	-,561	-1,000	,000	-,561	-1,000
	Asymp. Sig. (2-tailed)	,575	,317	1,000	,575	,317
	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,699 ^a	,699 ^a	1,000 ^a	,699 ^a	,699 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Tempo

Teste de Comparação Múltipla Kruskal-Wallis

grau de inflamação 7 dias

	Resultados
H =	13,7319
Graus de liberdade =	3
(p) Kruskal-Wallis =	0,0033
R 1 =	19
R 2 =	72
R 3 =	105
R 4 =	80
R 1 (posto médio) =	3,8
R 2 (posto médio) =	12
R 3 (posto médio) =	17,5
R 4 (posto médio) =	13,3333
p (1 e 2) =	0,0459
p (1 e 3) =	0,0009
p (1 e 4) =	0,0203
p (2 e 3) =	0,1601
p (2 e 4) =	0,7335
p (3 e 4) =	0,2873

grau de inflamação 21 dias

	Resultados
H =	12,2344
Graus de liberdade =	3
(p) Kruskal-Wallis =	0,0066
R 1 =	37,5
R 2 =	55
R 3 =	68,5
R 4 =	115
R 1 (posto médio) =	7,5
R 2 (posto médio) =	9,1667
R 3 (posto médio) =	11,4167
R 4 (posto médio) =	19,1667
p (1 e 2) =	0,6849
p (1 e 3) =	0,3402
p (1 e 4) =	0,0045

p (2 e 3) =	0,5656
p (2 e 4) =	0,0107
p (3 e 4) =	0,0478

corpo est - 7 dias

	Resultados
H =	17,3484
Graus de liberdade =	3
(p) Kruskal-Wallis =	0,0006
R 1 =	17,5
R 2 =	90
R 3 =	90
R 4 =	78,5
R 1 (posto médio) =	3,5
R 2 (posto médio) =	15
R 3 (posto médio) =	15
R 4 (posto médio) =	13,0833
p (1 e 2) =	0,0051
p (1 e 3) =	0,0051
p (1 e 4) =	0,0196
p (2 e 3) =	1
p (2 e 4) =	0,6245
p (3 e 4) =	0,6245

CORP EST 21 DIAS
GRUPO 1 DIFERENTE DOS DE MAIS

CEL INF 21 DIAS

	Resultados
H =	13,028
Graus de liberdade =	3
(p) Kruskal-Wallis =	0,0046
R 1 =	27
R 2 =	68,5
R 3 =	68,5
R 4 =	112
R 1 (posto médio) =	5,4
R 2 (posto médio) =	11,4167
R 3 (posto médio) =	11,4167

=	
R 4 (posto médio)	
=	18,6667
p (1 e 2) =	0,1429
p (1 e 3) =	0,1429
p (1 e 4) =	0,0012
p (2 e 3) =	1
p (2 e 4) =	0,0641
p (3 e 4) =	0,0641

COND FIB 21 DIAS

	Resultados
H =	8,4853
Graus de liberdade =	3
(p) Kruskal-Wallis =	0,037
R 1 =	85
R 2 =	76
R 3 =	76
R 4 =	39
R 1 (posto médio)	
=	17
R 2 (posto médio)	
=	12,6667
R 3 (posto médio)	
=	12,6667
R 4 (posto médio)	
=	6,5
p (1 e 2) =	0,2914
p (1 e 3) =	0,2914
p (1 e 4) =	0,0106
p (2 e 3) =	1
p (2 e 4) =	0,1153
p (3 e 4) =	0,1153

ABS 21 DIAS

	Resultados
H =	13,1228
Graus de liberdade =	3
(p) Kruskal-Wallis =	0,0044
R 1 =	50
R 2 =	60
R 3 =	60
R 4 =	106
R 1 (posto médio)	
=	10

R 2 (posto médio)	
=	10
R 3 (posto médio)	
=	10
R 4 (posto médio)	
=	17,6667
p (1 e 2) =	1
p (1 e 3) =	1
p (1 e 4) =	0,0619
p (2 e 3) =	1
p (2 e 4) =	0,0502
p (3 e 4) =	0,0502

HIPERCEL
DIFERENÇA ENTRE 1 E 4

ANEXO C. FIGURAS

FIGURA 1: DORSO

A: Grupo Controle 7 dias (presença de cápsula fibrosa). B: Grupo MTA 7 dias (presença de cápsula fibrosa, leve infiltrado inflamatório crônico e material calcificado). C: Grupo HC 7 dias (presença de cápsula fibrosa, moderado infiltrado inflamatório crônico e material calcificado). D: Grupo FC 7 dias (presença de moderado infiltrado inflamatório agudo e abscesso). E: Grupo Controle 21 dias (presença de cápsula fibrosa). F: Grupo MTA 21 dias (presença de cápsula fibrosa, leve infiltrado inflamatório crônico e material calcificado). G: Grupo HC 21 dias (presença de cápsula fibrosa, leve infiltrado inflamatório crônico e material calcificado). H: Grupo FC 21 dias (presença de moderado infiltrado inflamatório agudo e abscesso). Aumento de 100x.

FIGURA 2: FÍGADO

A: Grupo Controle 7 dias (tecido normal). B: Grupo MTA 7 dias (tecido normal). C: Grupo HC 7 dias (presença de esteatose microvesicular). D: Grupo FC 7 dias (presença de esteatose micro e macrovesicular e congestão vascular). E: Grupo Controle 21 dias (presença de esteatose microvesicular). F: Grupo MTA 21 dias (presença de esteatose microvesicular e congestão vascular). G: Grupo HC 21 dias (presença de esteatose micro e macrovesicular). H: Grupo FC 21 dias (presença de esteatose micro e macrovesicular e congestão vascular). Aumento de 100x.

FIGURA 3: RIM

A: Grupo Controle 7 dias (tecido normal). B: Grupo MTA 7 dias (tecido normal). C: Grupo HC 7 dias (tecido normal). D: Grupo FC 7 dias (presença de congestão vascular e hiper celularidade). E: Grupo Controle 21 dias (tecido normal). F: Grupo MTA 21 dias (presença de congestão vascular e hiper celularidade). G: Grupo HC 21 dias (presença de congestão vascular e hiper celularidade). H: Grupo FC 21 dias (presença de congestão vascular e hiper celularidade). Aumento de 100x.

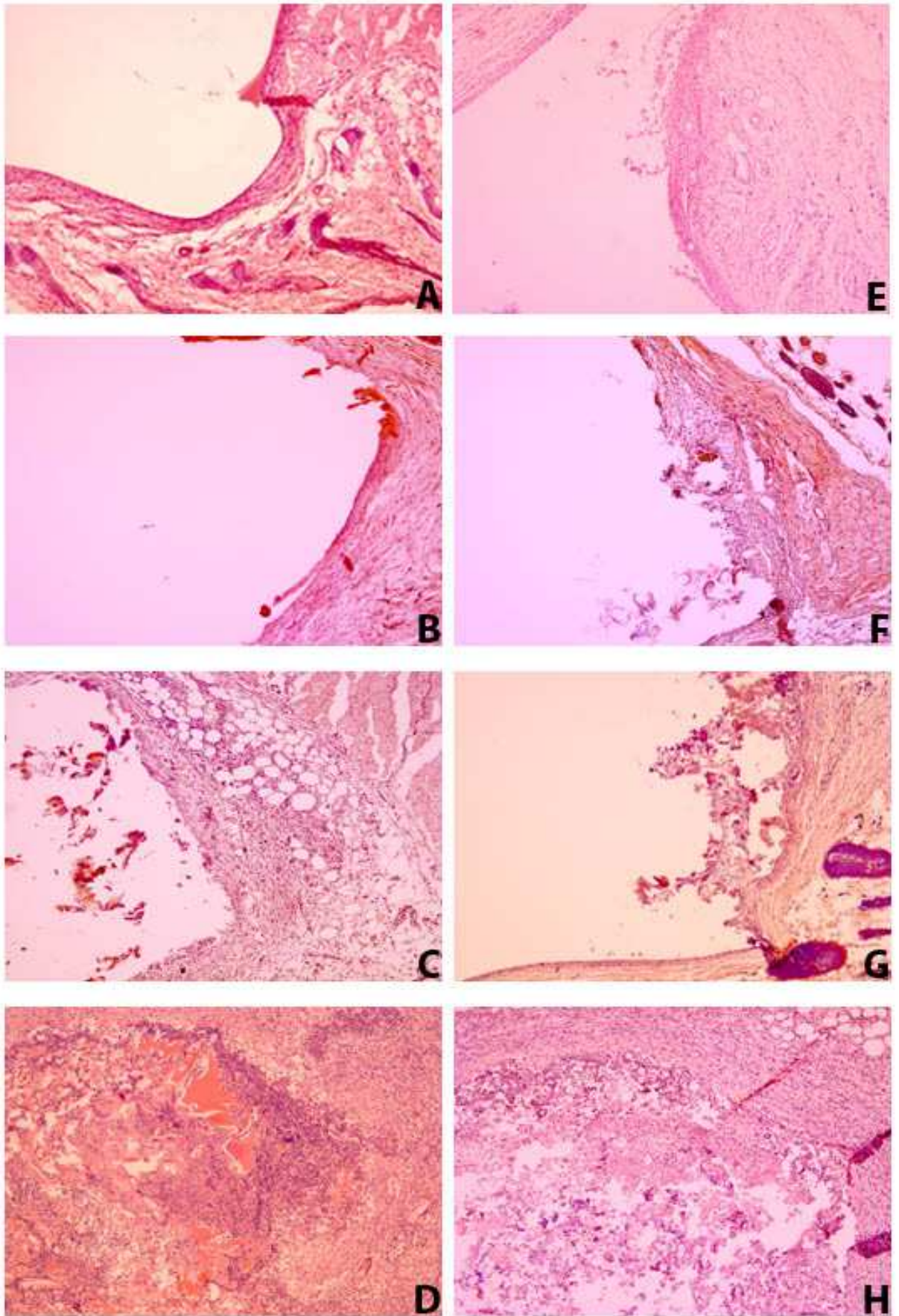


Figura 1

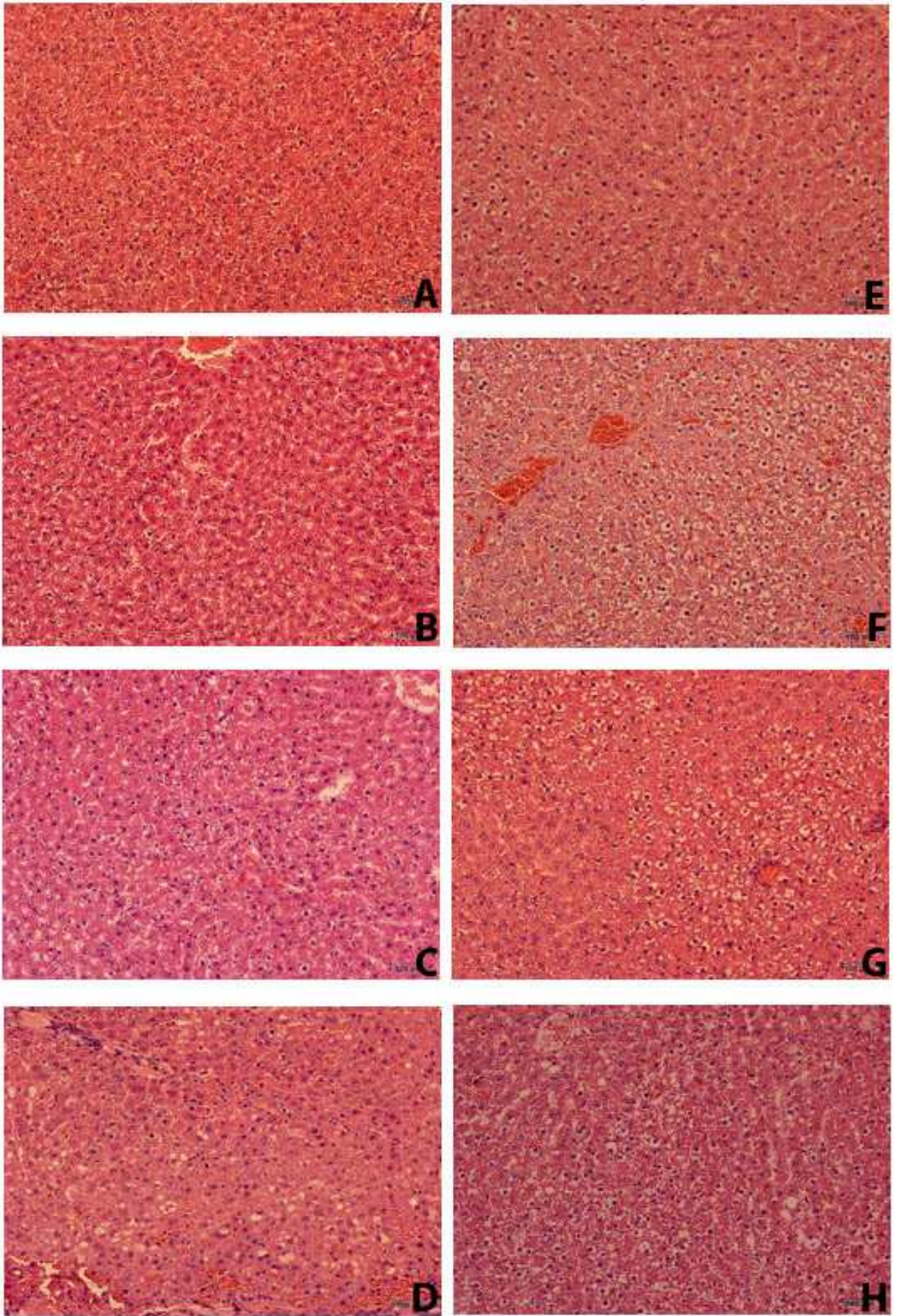


Figura 2

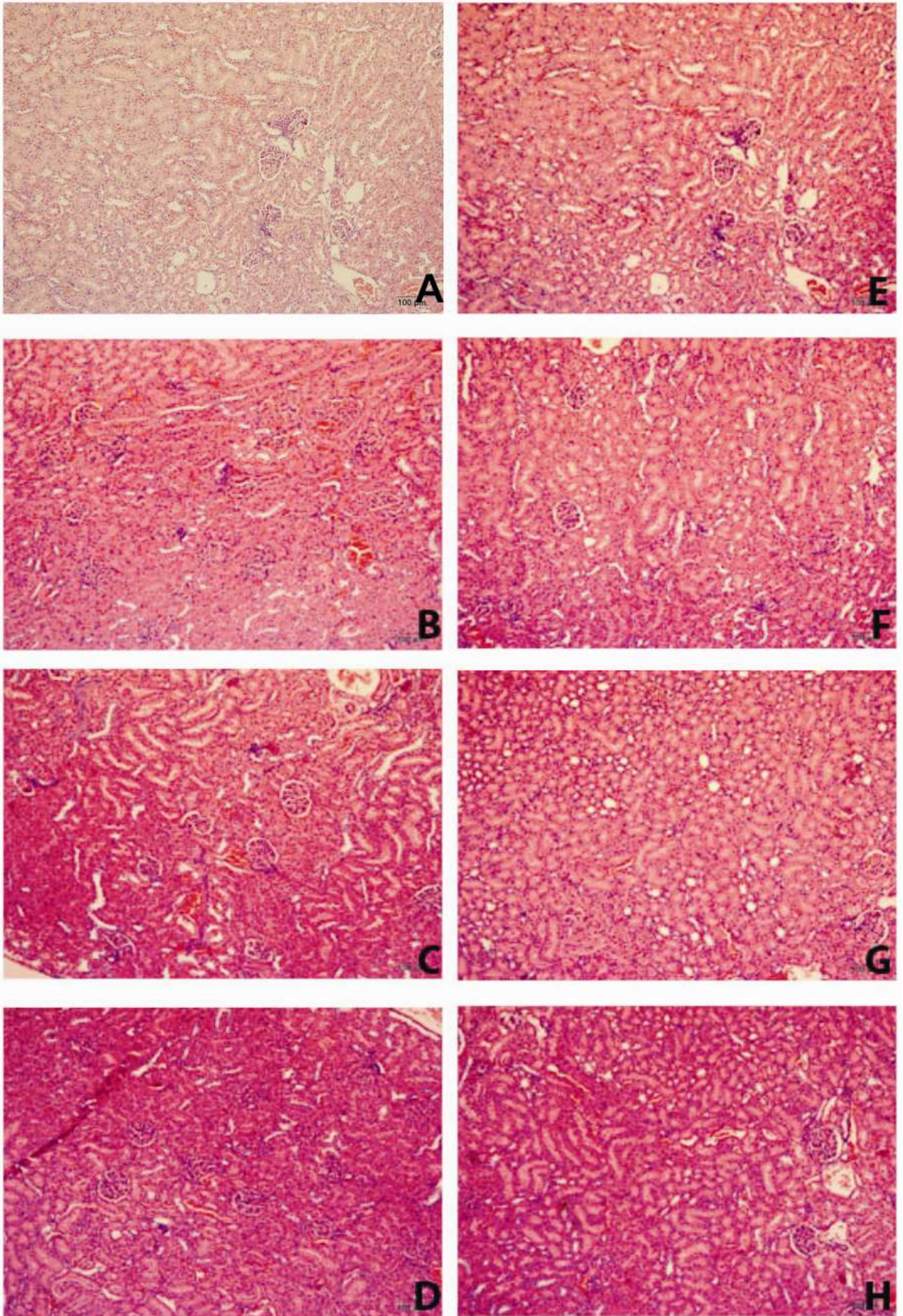


Figura 3

FIGURA 4

Animal anestesiado.

**FIGURA 5**

Após tricotomia, foram realizadas incisão e divulsão do tecido.

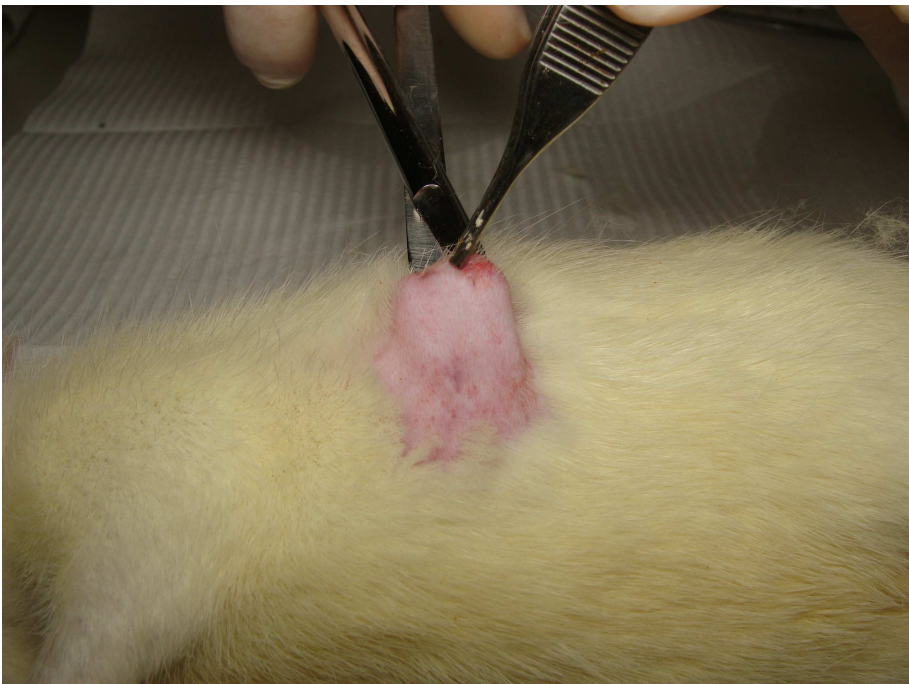
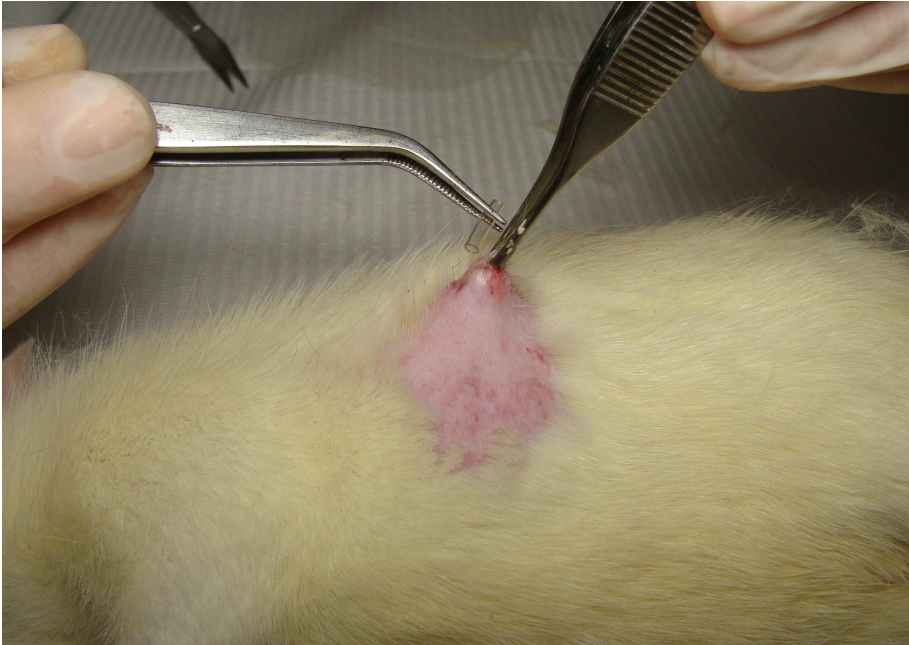


FIGURA 6

O tubo sendo inserido no tecido subcutâneo.

**FIGURA 7**

Tubo posicionado e sutura realizada.

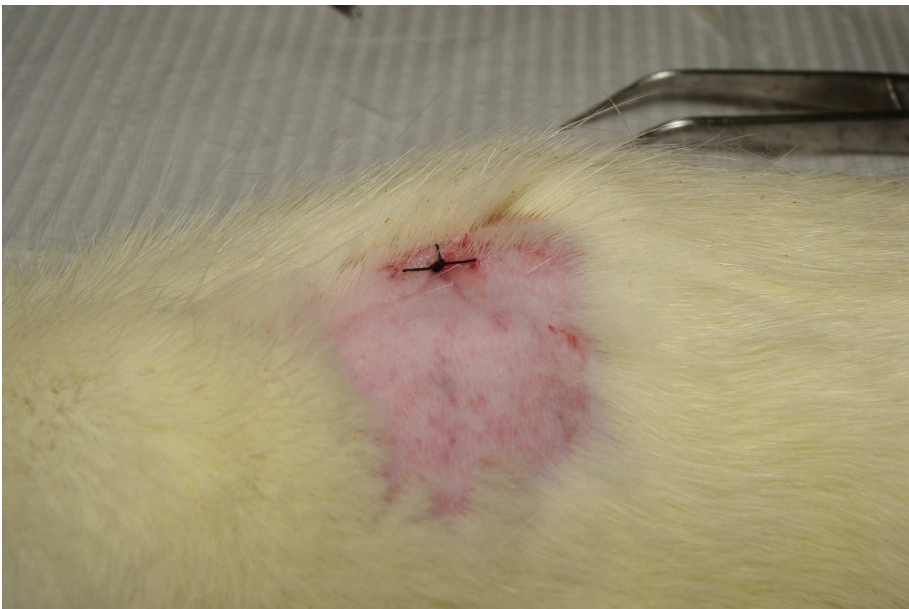


FIGURA 8

Após eutanásia, o tecido do dorso, com margem, foi removido.

**FIGURA 9**

Foi realizada incisão no ventre do animal para localização dos órgãos fígado e rim.

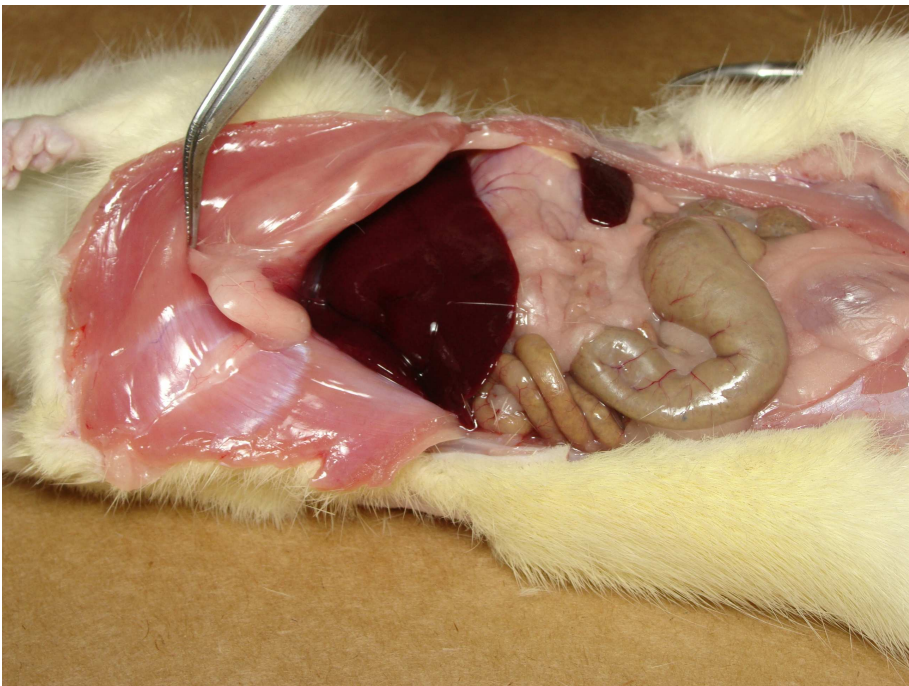


FIGURA 10

Fígado removido.

**FIGURA 11**

Rim removido.

