

# AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CARCINOGENICO DO FORMOCRESOL DILUÍDO A 1/5 E DO GLUTARALDEÍDO A 2% NO MODELO EXPERIMENTAL DMBA-INDUZIDO

THE EVALUATION OF THE CARCINOGENIC POTENTIAL OF 1/5  
FORMOCRESOL AND 2% GLUTARALDEHYDE IN  
DMBA-INDUCED MODEL

Carlos Luiz Fernandes de SALLES\*

Alberto CONSOLARO\*\*

Aymar PAVARINI\*\*\*

Luiz Antônio de Assis TAVEIRA\*\*\*\*

Maria Francisca Thereza Borro BIJELLA\*\*\*\*\*

## RESUMO

**O** objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial carcinogênico do formocresol e do glutaraldeído, nas concentrações utilizadas clinicamente; em testes de longa duração, a partir do modelo experimental em hamsters sírios dourados para o estudo da carcinogênese química bucal induzida pelo uso do DMBA a 0,5%. A análise comparativa macro e microscópica das alterações provocadas pela aplicação tópica do formocresol diluído a 1/5 e do glutaraldeído a 2% sobre a mucosa lingual lateral, precedida ou não por escarificação, após 7, 13 e 20 semanas, permitiu verificar que o formocresol diluído a 1/5 e o glutaraldeído a 2% induzem alterações epiteliais hiperplásicas nos locais das aplicações, mas sem modificações morfológicas que caracterizam displasia epitelial; não houve indução à formação de papilomas e carcinomas nos animais, tal como ocorreu com o DMBA a 0,5%.

## UNITERMOS

Carcinogênese bucal; Formocresol; Glutaraldeído; Dimetilbenzantraceno.

---

Trabalho extraído da Tese de Doutorado em Odontopediatria defendida pelo primeiro autor em 07/12/93.

\* Professor Assistente de Odontopediatria do Curso de Odontologia da Universidade Estadual de Maringá - PR.

\*\* Professor Associado do Departamento de Patologia da Faculdade de Odontologia de Bauru - USP.

\*\*\* Professor Titular do Departamento de Odontopediatria e Ortodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru - USP.

\*\*\*\* Professor Doutor do Departamento de Patologia da Faculdade de Odontologia de Bauru - USP.

\*\*\*\*\* Professora Associada do Departamento de Odontopediatria e Ortodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru - USP.

## INTRODUÇÃO

No tratamento de dentes decíduos com alterações pulpares, entre os grupos de agentes químicos mais comumente empregados, encontram-se as soluções contendo aldeídos. A absorção sistêmica do formocresol<sup>3,26,28,32,34,35</sup> e do glutaraldeído<sup>29,36</sup>, a partir dos locais das pulpotomias em animais laboratoriais, foi demonstrada, permitindo-se questionamentos relativos ao potencial tóxico destas drogas.

A preocupação com relação aos efeitos mutagênico e carcinogênico de drogas contendo aldeídos, em Odontologia, ficou demonstrada, principalmente nos trabalhos de revisão de LEWIS; CHESTNER<sup>19</sup>, KENNY; JUDD<sup>16</sup> e JUDD; KENNY<sup>14</sup>. Em altas concentrações a inalação de vapores de formaldeído tem induzido neoplasias no trato respiratório de animais de laboratório<sup>24,38,43</sup>. Os testes de curta duração realizados com o formaldeído, embora indicativos de mutagenicidade em drosófilas<sup>1</sup> e em cultura de células humanas<sup>10</sup>, não são conclusivos com relação ao real risco mutagênico e carcinogênico em humanos.

A partir de modelos experimentais em hamsters sírios dourados para o estudo da carcinogênese química bucal, inicialmente preconizados por SALLEY<sup>41</sup>, FUJITA et al<sup>7,8</sup>, EVESON; MACDONALD<sup>5</sup>, MAREFAT<sup>21</sup>, MAREFAT; SHKLAR<sup>22</sup> e MORRIS<sup>25</sup> e, recentemente padronizado por FASSONI<sup>6</sup>, surgiu a possibilidade de se avaliar o potencial carcinogênico do formocresol e do glutaraldeído, nas concentrações utilizadas clinicamente, em testes de longa duração.

A proposta deste trabalho foi observar, comparativamente, as evoluções macroscópica e microscópica das alterações provocadas pela aplicação tópica do formocresol diluído a 1/5 e do glutaraldeído a 2% sobre a mucosa lingual lateral, para avaliação dos fatores pertinentes à carcinogênese química bucal induzida.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 180 hamsters sírios dourados com peso corporal aproximado de 125g e idade média de 90 dias, sem diferenças de distribuição quanto ao sexo. Os animais foram distribuídos em 6 grupos, com 30 espécimes cada. O grupo I recebeu o carcinógeno dimetilbenzantraceno (DMBA), diluído em acetona a 0,5% e o grupo II somente o solvente do carcinógeno, ou seja, a acetona. O grupo III recebeu aplicação do

formocresol diluído a 1/5 e o grupo IV, por sua vez, foi submetido ao mesmo tratamento, porém, precedido de trauma por escarificação. Os grupos V e VI foram tratados com o glutaraldeído a 2% sem e com escarificação prévia, respectivamente.

As drogas foram pinceladas três vezes por semana na porção média da borda lateral esquerda da língua, após contenção física dos animais. A cada aplicação, os animais dos grupos IV e VI sofreram escarificação prévia com broca nº 34 de uso odontológico ao procedimento anteriormente descrito. Cada grupo foi dividido em três períodos experimentais de 7, 13 e 20 semanas. Durante o procedimento, as alterações macroscópicas evolutivas, tais como mancha branca, mancha vermelha, formação exofítica e ulceração, foram registradas

O sacrifício foi realizado por inalação excessiva de éter sulfúrico, ao final de cada período. Em seguida foi executada uma necrópsia com retirada da língua, linfonodos regionais, fígado, rins e pulmões. Os órgãos retirados foram fixados em formalina e preparados pelo procedimento de rotina e corados pela H.E.

Microscopicamente, as alterações observadas foram diagnosticadas, classificadas e quantificadas em valores numéricos (VN), estabelecidas de maneira crescente, de acordo com a gravidade da lesão, representados na Tabela I.

TABELA I - Classificação das alterações observadas microscopicamente e respectivos valores numéricos (VN)

Aspecto Morfológico	Intensidade	VN
Mucosa Normal		1,0
Hiperplasia e hiperqueratose sem displasia	leve	2,0
	moderada	2,4
	intensa	2,8
	leve	3,0
Hiperplasia e hiperqueratose com displasia	moderada	3,4
	intensa	3,8
Carcinoma microinvasivo		4,0
Carcinoma invasivo com metástase		5,0
Carcinoma invasivo com metástase		6,0

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desenvolvimento de tumores, em organismos multicelulares diferenciados, é um processo que se prolonga geralmente por meses ou anos,

constituindo-se na somatória de efeitos de agentes carcinogênicos. Na maioria dos modelos experimentais de carcinogênese bucal induzida, a manifestação de uma lesão neoplásica pode ser obtida mais rapidamente. Para muitos carcinógenos, os testes de mutagênese, ou de curta duração, podem identificar aqueles que aparentemente agem através da interação com as células, modificando a estrutura do DNA<sup>20</sup>. Todavia, estimativas quantitativas de risco carcinogênico em humanos são mais difíceis a partir de resultados de testes de curto prazo; prefere-se utilizar-se da administração crônica em experimentos com animais, como foi a intenção deste trabalho.

Nos testes de longa duração é possível compartimentalizar o processo de desenvolvimento de neoplasias em dois grandes estágios, denominados de *iniciação* e *promoção*<sup>2,11,17,30,31,39</sup>. A fase final da carcinogênese é reconhecida como a *manifestação* clínica da lesão, decorrente de uma fase intermediária que é o estágio de *progressão*. Microscopicamente, este processo caracteriza-se, evolutivamente, pela reação inflamatória, hiperplasia e finalmente a displasia celular, até que se manifeste a lesão macroscopicamente<sup>8,11,13,18,39</sup>.

O DMBA, um hidrocarbono aromático policíclico, é o agente químico mais utilizado na indução à carcinogênese bucal em todo o mundo. Foi empregado, neste experimento, como controle positivo, por sua ação local e suas propriedades comprovadas de *iniciação* e *promoção* de neoplasias<sup>17,30,31</sup>, não requerendo associação com outras drogas carcinogênicas.

As comparações realizadas entre as drogas testadas e o DMBA, isoladamente, tiveram o objetivo de averiguar se estas também se comportavam como um carcinógeno completo, ou seja, capacidade de iniciar e promover lesões.

A escolha da porção média da borda lateral da língua de hamsters para indução dos carcinomas foi definida pela facilidade de acesso e pela possibilidade de uma analogia mais direta com lesões humanas correlatas. Além disso FUJITA et al<sup>8</sup> observaram que o período de latência para a produção de carcinomas nestes animais é relativamente menor neste local, quando comparado com os de outras regiões da língua.

No presente trabalho, realizou-se a escarificação prévia para as drogas testadas a fim de melhor correlacioná-la aos procedimentos de exérese da polpa e contato direto das drogas com a área lesada. Da

mesma forma, podemos considerar o procedimento da escarificação como sendo uma porta de entrada do agente químico na potencialização de lesões neoplásicas<sup>7,9,18,22,37</sup>.

Do ponto de vista macroscópico, no grupo I as lesões eram visíveis quando o carcinoma DMBA-induzido, estava praticamente instalado, conforme observado por FASSONI<sup>6</sup>. Com relação às drogas testadas (grupos III, IV, V e VI), estas não apresentaram lesões visíveis macroscopicamente, nos locais das aplicações. O mesmo não foi observado por MARTIM<sup>23</sup>, quando a via de penetração não era a mucosa bucal; verificou que o glutaraldeído a 2% provocou agressões nas córneas e conjuntivite severa em coelhos.

A análise dos órgãos à distância mostrou, nesta metodologia, que não houve alterações significantes macroscópica e microscopicamente por meio de microscopia óptica. Estes achados são confirmados pelos estudos da difusão e distribuição sistêmica do formaldeído<sup>3,26,32,34,35</sup> e do glutaraldeído<sup>29,36</sup> a partir dos locais de pulpotomia ou após injeção endovenosa<sup>32,36</sup>, onde apesar das doses aplicadas ultrapassarem aquelas comumente utilizadas numa pulpotomia, mostraram que estas drogas são eliminadas pela urina e gases expirados, sem causar danos aos órgãos.

Entretanto, MYERS et al<sup>27</sup> observaram que na toxicidade aguda sistêmica provocada pelo formocresol predominavam alterações cardiovasculares, nos níveis de enzimas urinárias e plasmáticas, além de evidências microscópicas de agressões nos rins; com edema glomerular e degeneração hidrópica do epitélio tubular, e dos pulmões, caracterizada por pneumonite atípica com deposição de fibrina septal, sendo estes efeitos proporcionais à quantidade da droga aplicada. Em outro trabalho, MYERS et al<sup>28</sup> relataram encontrar alterações teciduais, caracterizadas por edema generalizado com conseqüente agressão celular nos rins e fígado de cão, tratados com 16 pulpotomias com formocresol.

As observações microscópicas dos órgãos internos neste trabalho, como rins, fígado, pulmões e também nos linfonodos, revelaram alterações degenerativas como tumefação turva, degeneração hidrópica, associadas ou não à eosinofilia aumentada, ainda que discreta. Nos resultados porém, não consideramos tais fenômenos morfológicos, pois podem constituir-se em alterações decorrentes da anoxia proporcionada pela forma com que os animais foram sacrificados.

Nos grupos experimentais III, IV, V e VI, as alterações epiteliais observadas nos três períodos foram predominantemente hiperplásicas (Figura 1), contrastando assim com as alterações de natureza neoplásica do grupo I, ou DMBA, e com a normalidade tecidual demonstrado no grupo II, ou acetona (Gráfico 1).

sua determinação diagnóstica resulta de um conjunto de fenômenos analisados por parte do patologista, ou seja, ela requer para sua identificação um treinamento prévio por parte do examinador, pois, caso contrário, algumas alterações que a simulam podem levar a um diagnóstico equivocado<sup>39</sup>.

Em anatomia patológica, nas lesões ulceradas, ou recém-recobertas, onde o processo inflamatório apresenta fenômenos proliferativos próprios de regeneração epitelial, é comum observarem-se morfologias celulares altamente sugestivas de modificações displásicas, porém, sem qualquer relação direta e real com processos tumorais malignos<sup>6</sup>, justificando assim, a ocorrência de alterações displásicas isoladas nos grupos III, IV e V. A displasia reflete a persistência de influências nocivas, como a ação de substâncias química<sup>41</sup> e o trauma repetitivo. Estes fatores, neste experimento, podem ter induzido um processo inflamatório com alterações epiteliais de natureza regenerativa que simularam morfologicamente displasia.

O procedimento de escarificação prévia mostrou-se ineficaz em acelerar o aparecimento de lesões com as drogas testadas (Tabelas II e III).

A análise do Gráfico 1 mostrou que para o formocresol diluído a 1/5 o valor da média tendeu a representar um aumento das lesões quando da escarificação prévia no período de 20 semanas. É possível que somente a partir deste período este procedimento possa ser representativo, embora o uso desta droga por períodos tão prolongados não seja utilizada clinicamente. Com relação ao glutaraldeído a 2%, neste período, observou-se uma tendência inversa, ou seja, o fato da escarificação prévia apresentar resultados mais brandos que o grupo sem a escarificação, pode estar relacionado à suas propriedades bactericidas, de baixa penetração tecidual ou ainda, por produzir uma resposta inflamatória mais discreta, permitindo assim uma reparação mais rápida da ferida.

No grupo I, a análise microscópica mostrou que os carcinomas DMBA-induzidos são precedidos pelos papilomas que apresentam ou não alterações displásicas<sup>21,22</sup>. Em geral, são bem diferenciados pois apesar da atipia celular traduzida pelo pleomorfismo e hiperchromatismo exuberantes, bem como pelas mitoses freqüentes, a disqueratose e as pérolas córneas são abundantes<sup>15,44</sup> (Figura 2). A organização tecidual, a relação intercelular e o modelo de invasividade são condizentes com a diferenciação

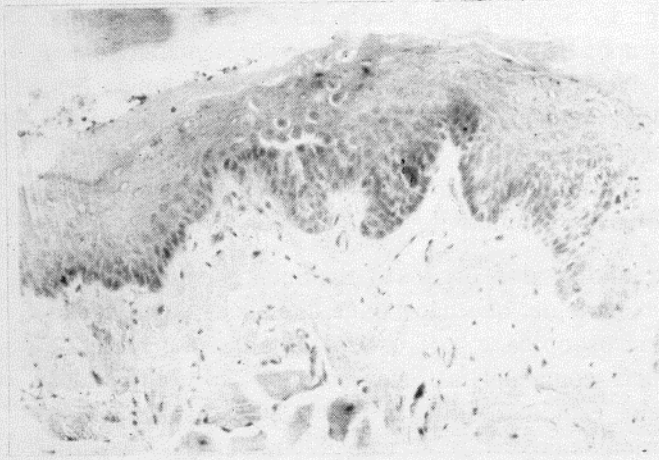


FIGURA 1- Aspectos morfológicos microscópicos da mucosa lingual da borda lateral em condições de hiperplasia com displasia. (H.E. aumento final = 100x)

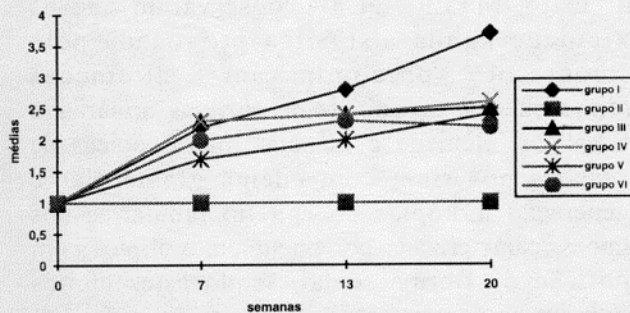


GRÁFICO 1 - Evolução das médias dos valores numéricos, nos diferentes grupos, nos períodos de 7, 13 e 20 semanas de experimento.

As células componentes de um epitélio normalmente apresentam regularidade de volume, forma e núcleo. A displasia representa uma quebra da normalidade morfológica epitelial, caracterizada por variações de volume e forma da célula decorrentes do distúrbio de crescimento celular, resultando em pleomorfismo, hiperchromatismo e atipia celulares; em consequência a organização epitelial desaparece e as células se arranjam desordenadamente, perdendo assim, o epitélio, as características próprias da maturação celular que promovem a sua clássica estratificação. A

celular ainda presente<sup>6</sup>. Esses achados corroboram com os descritos na literatura por FUJITA et al<sup>7,8</sup>, MAREFAT; SHKLAR<sup>22</sup> e SALLEY<sup>40,41</sup>.

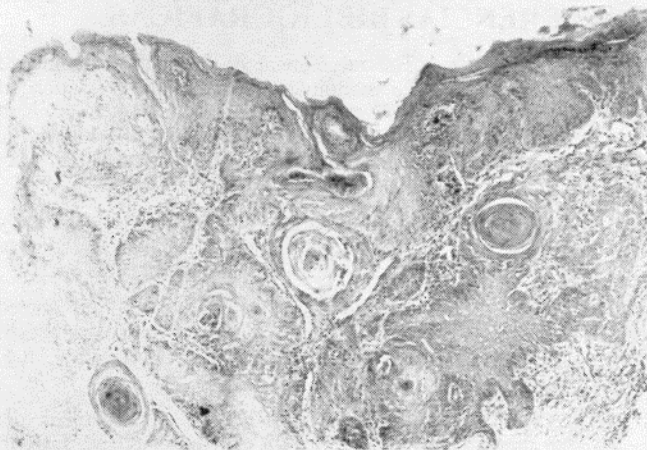


FIGURA 2 - Aspectos morfológicos microscópicos da mucosa lingual da borda lateral em condições de carcinoma espinocelular. (H.E. Aumento final = 100x)

Do ponto de vista do comportamento biológico, a análise das alterações às aplicações das drogas testadas, nos três períodos experimentais, mostrou lesões microscopicamente semelhantes, morfológica e evolutivamente. Pode-se constatar ainda (Gráfico 1), numa análise global que o formocresol diluído a 1/5 e o glutaraldeído a 2%, nesta metodologia não tiveram potencial para indução de lesões neoplásicas, em relação ao DMBA. Para o período de 7 semanas, os resultados comparados com o grupo controle positivo, em ambas as drogas, foram semelhantes (Tabelas IV e V, respectivamente), caracterizados por alterações hiperplásicas.

A partir do período de 13 semanas pôde-se observar que os resultados do grupo controle positivo (Grupo 1) apresentaram uma evolução linear que culminou no aparecimento de lesões neoplásicas no período de 20 semanas. Com relação às drogas testadas houve uma estabilização do tipo de lesões hiperplásicas apresentadas, sendo que o glutaraldeído apresentou significância a partir da 13ª semana (Tabela V) e o formocresol apenas com 20 semanas (Tabela IV). O formocresol diluído a 1/5 apresentou maior intensidade de respostas hiperplásicas que o glutaraldeído a 2%, como observado no Gráfico 1, nos três períodos experimentais. Estes resultados confirmam a literatura que relata um potencial menos tóxico do glutaraldeído em relação ao formocresol<sup>4,12,33,36,42</sup>.

A partir dos resultados obtidos neste trabalho pode-se verificar que nesta metodologia, o formocresol diluído a 1/5 e o glutaraldeído a 2% não apresentaram potencial

de indução de neoplasias. Porém, a fim de posicionar definitivamente essas drogas com relação aos potenciais mutagênico e carcinogênico e seu risco em humanos, alerta-se para a necessidade de outros trabalhos que testem um possível efeito co-carcinogênico desses agentes, quando associados a drogas comprovadamente iniciadoras, o que se pretende realizar em futuros trabalhos nesta linha de pesquisa.

TABELA II- Teste de Mann Whitney para comparação entre os grupos III e IV isoladamente, nos diferentes tempos de observação

tempo (semanas)	grupo III		grupo IV		U	Ucrit. (bilateral)	
	N1	R1	N2	R2		p<0,05	p<0,01
7	9	79,5	9	91,5	34,5	17	11
13	10	106	10	104	49	23	16
20	10	91	10	119	36	23	16

\* estatisticamente significante

N= número de elementos

R1 = soma dos postos atribuídos ao grupo cujo tamanho da amostra é N1

R2 = soma dos postos atribuídos ao grupo cujo tamanho da amostra é N2

TABELA III -Teste de Mann Whitney para comparação entre + os grupos V e VI isoladamente, nos diferentes tempos de observação

tempo semanas	grupo V		grupo VI		U	Ucrit.(bilateral)	
	N1	R1	N2	R2		p<0,05	p<0,01
7	10	95	10	115	40	23	16
13	10	80	10	130	25	23	16
20	10	110	9	80	35	20	13

\* estatisticamente significante

N= número de elementos

R1 = soma dos postos atribuídos ao grupo cujo tamanho da amostra é N1

R2 = soma dos postos atribuídos ao grupo cujo tamanho da amostra é N2

TABELA IV -Teste de Mann Whitney para comparação entre + os grupos I e III isoladamente, nos diferentes tempos de observação

tempo semanas	grupo V		grupo VI		U	Ucrit.(bilateral)	
	N1	R1	N2	R2		p<0,05	p<0,01
7	9	76	9	95	31	17	11
13	9	113,5	10	76,5	21,5	20	13
20	10	134	10	76	21	23	16

\* estatisticamente significante

N= número de elementos

R1 = soma dos postos atribuídos ao grupo cujo tamanho da amostra é N1

R2 = soma dos postos atribuídos ao grupo cujo tamanho da amostra é N2

TABELA V - Teste de Mann Whitney para comparação entre os grupos I e V isoladamente, nos diferentes tempos de observação

tempo semanas	grupo V		grupo VI		Ucrit.(bilateral)		
	N1	R1	N2	R2	U	p<0,05	p<0,01
7	9	102,5	10	87,5	32,5	20	13
13	9	113,5	10	57	2	20*	13
20	10	136	10	74	19	23*	16

\* estatisticamente significante  
N= número de elementos  
R1 = soma dos postos atribuídos ao grupo cujo tamanho da amostra é N1  
R2 = soma dos postos atribuídos ao grupo cujo tamanho da amostra é N2

## CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, verificou-se que:

◆ O formocresol diluído a 1/5 e o glutaraldeído a 2% induzem alterações epiteliais hiperplásicas nos locais das aplicações, mas sem modificações morfológicas que caracterizem displasia epitelial;

◆ Não houve indução à formação de papilomas e carcinomas nos animais em que foram aplicados formocresol diluído a 1/5 e glutaraldeído a 2%, na mucosa da borda lateral da língua de hamster, tal como foi feito com o DMBA a 0,5%.

Desta forma, pôde-se concluir que o formocresol diluído a 1/5 e o glutaraldeído a 2%, quando comparados ao DMBA no mesmo método de aplicação, não são carcinógenos completos.

## ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the carcinogenic potential of formocresol and glutaraldehyde in clinically used concentrations, in long-term tests, starting from the experimental model in golden Syrian hamsters for the study of induced buccal chemical carcinogenesis, due to 0,5% DMBA use. The comparative analysis of macro and microscopic evolutions of the changes induced by the topical application of formocresol 1:5 and 2% glutaraldehyde over the lateral lingual mucosa, preceded or not by the procedure of trauma by scarification, after 7, 13, and 20 weeks, allowed to evidence that: formocresol 1:5 and 2% glutaraldehyde induced hyperplastic epithelial alterations on the application site; but without modifications that characterized epithelial dysplasia. There was no induction of papiloma and carcinoma in animals, as well as performed with 0,5% DMBA.

## UNITERMS

Oral carcinogenesis; Formocresol; Glutaraldehyde.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1-ALDERSON, T. The mechanism of formaldehyde-induced mutagenesis. The monohydroxy-methylation reaction of formaldehyde with adenylic acid as the necessary and sufficient condition for the mediation of the mutagenic activity of formaldehyde. *Mutat. Res.*, v.1, p.77-85, May 1964.
- 2-BERENBLUM, I. The mechanism of carcinogenesis. A study of the significance of cocarcinogenic action and related phenomena. *Cancer Res.*, v.1, p.807-14, Oct. 1941.
- 3-BLOCK, R.M. et al. Systemic distribution of [<sup>14</sup>C]-labeled paraformaldehyde incorporated within formocresol following pulpotomies in dogs. *J. Endod.*, v. 9, n.5, p.176-89, May 1983.
- 4-DAVIS, M.J.; MYERS, R.; SWITKES, M.D. Glutaraldehyde: an alternative to formocresol for vital pulp therapy. *J. Dent. Child.*, v.49, n.3, p.176-80, May/June 1982.
- 5-EVESON, J.W.; MACDONALD, D.G. Hamster tongue carcinogenesis. I. characteristics of the experimental model. *J. oral Path.*, v.10, n.5, p.322-31, Sept./Oct. 1981.
- 6-FASSONI, A.A. **Carcinogênese bucal química DMBA-induzida: estudo metodológico em hamsters sírios dourados.** Bauru, 1992. 98p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
- 7-FUJITA, K. et al. Experimental production of lingual carcinomas in the hamsters by local application of 9,10-Dimethyl-1,2-Benzanthracene. *J. dent. Res.*, v.52, n.2, p.327-32, Mar./Apr. 1973.
- 8-FUJITA, K. et al. Experimental production of lingual carcinoma in hamsters: Tumor characteristics and site of formation. *J. dent. Res.*, v.52, n.6, p.1176-85, Nov./Dec. 1973.
- 9-GOLDHABER, P. The role of saliva and other local environmental factors in oral carcinogenesis. *J. Amer. dent. Ass.*, v.54, p.517-24, Apr. 1957.
- 10-GOLDMACHER, V.S.; THILLY, W.G. Formaldehyde is mutagenic for cultured human cells. *Mutat. Res.*, v.116, n.3-4, p.417-22, Mar. 1983.
- 11-GUIMARÃES, S.A.C. Neoplasias. In: \_\_\_\_\_ **Patologia básica da cavidade bucal.** Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1982, p.316-412.
- 12-HILL, S.D. et al. Comparison of antimicrobial and cytotoxic effects of glutaraldehyde and formocresol. *Oral Surg.*, v.71, n.1, p.89-95, Jan. 1991.
- 13-HOMBURGER, F. Chemical carcinogenesis in the syrian golden hamster. A review. *Cancer*, v.23, p.313-38, Feb. 1969.
- 14-JUDD, P.L.; KENNY, D.J. Formocresol concerns: a review. *J. Canad. dent. Ass.*, v. 53, n.5, p.401-4, 1987.
- 15-KATZ, H.C.; SHEAR, M.; ALTINI, M. A critical evaluation of epithelial dysplasia in oral mucosal lesions using the Smith-Pindborg method of standardization. *J. oral Path.*, v.14, n.6, p.476-82, Nov./Dec. 1985.
- 16.KENNY, D.J.; JUDD, P.L. Time to reconsider the use of aldehydes in children's dentistry. *J.Canad. dent. Ass.*, v.53, n.5, p.333, May 1987.

17. KONDO, M.; TSUCHIKAWA, K.; KATO, J. Experimental analysis on the chemically induced carcinoma. Two-phase carcinogenesis (The 2nd. experiment). *Shigaku*, v.74, n.6, p.1283-302, 1987.
18. LEVY, B.M. The experimental production of carcinoma of the tongue in mice. *J. dent. Res.*, v.37, p.950, Sept./Oct. 1958.
19. LEWIS, B.B.; CHESTNER, S.B. Formaldehyde in dentistry: a review of mutagenic and carcinogenic potential. *J. Amer. dent. Ass.*, v.103, n.9, p.429-34, Sept. 1981.
20. LIJINSKY, W. Importance of animal experiments in carcinogenesis research. *Environ. Mol. Mutagen.*, v.11, n.3, p.307-14, 1988.
21. MAREFAT, M.P. The effect of the short dose schedule of DMBA application in inducing lingual neoplasia in inbred Syrian hamster. *J. oral Path.*, v.14, n.5, p.383-9, 1985.
22. MAREFAT, P.; SHKLAR, G. Experimental production of lingual leukoplakia and carcinoma. *Oral Surg.*, v.44, n.4, p.578-86, Oct. 1977.
23. MARTIN, H. Connective tissue reactions to acid glutaraldehyde. *Oral Surg.*, v.46, n.3, p.433-41, Sept. 1978.
24. MONTICELLO, T.M. et al. Effects of formaldehyde gas on the respiratory tract of Rhesus monkey. *Amer. J. Path.*, v.134, n.3, p.515-27, Mar. 1989.
25. MORRIS, A.L. Factors influencing experimental carcinogenesis in the hamster cheek pouch. *J. dent. Res.*, v. 40, n.1, p.3-15, Jan./Fev. 1961.
26. MYERS, D.R. et al. Distribution of <sup>14</sup>C-formaldehyde after pulpotomy with formocresol. *J. Amer. dent. Ass.*, v.96, n.5, p.805-13, May 1978.
27. MYERS, D.R. et al. The acute toxicity of high doses of systemically administered formocresol in dogs. *Pediat. Dent.*, v.3, n.1, p.37-41, Mar. 1981.
28. MYERS, D.R. et al. Tissue changes induced by the absorption of formocresol from pulpotomy sites in dogs. *Pediat. Dent.*, v.5, n.1, p.6-8, Jan./Fev. 1983.
29. MYERS, D.R. et al. Systemic absorption of <sup>14</sup>C-glutaraldehyde from glutaraldehyde-treated pulpotomy sites. *Pediat. Dent.*, v.8, n.2, p.134-8, June 1986.
30. ODUKOYA, O.; SHKLAR, G. Two-phase carcinogenesis in hamster buccal pouch. *Oral Surg.*, v.54, n.5, p.547-52, Nov. 1982.
31. ODUKOYA, O.; SHKLAR, G. Initiation and promotion in experimental oral carcinogenesis. *Oral Surg.*, v.58, n.3, p.315-20, Sept. 1984.
32. PAŞHLEY, E.L. et al. Systemic distribution of <sup>14</sup>C-formaldehyde from formocresol-treated pulpotomy sites. *J. dent. Res.*, v.59, n.3, p.603-8, Mar. 1980.
33. PEREIRA, A.C. **Avaliação microscópica dos efeitos do glutaraldeído a 2% e formocresol diluído a 1/5 sobre os tecidos pulpaes e periapicais de molares de ratos, após realização de pulpotomias.** Bauru, 1993. 139p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
34. RANLY, D.M. Assessment of the systemic distribution and toxicity of formaldehyde following pulpotomy treatment. Part one. *J. Dent. Child.*, v. 52, n.6, p.431-4, Nov./Dec. 1985.
35. RANLY, D.M.; HORN, D. Assessment of the systemic distribution and toxicity of formaldehyde following pulpotomy treatment. Part two. *J. Dent. Child.*, v.54, n.1, p.40-4, Jan./Feb. 1987.
36. RANLY, D.M.; HORN, D.; HUBBARD, G.B. Assessment of the systemic distribution and toxicity of glutaraldehyde as a pulpotomy agent. *Pediat. Dent.*, v.11, n.1, p.8-13, Mar. 1989.
37. RENSTRUP, G.; SMULOW, J.B.; GLICKMAN, I. Effect of chronic mechanical irritation on chemically induced carcinogenesis in the hamster cheek pouch. *J. Amer. dent. Ass.*, v.64, p.770-7, June 1962.
38. REPORT of the Federal Panel on Formaldehyde. *Environ. Health Perspect.*, v.43, p.139-68, Feb. 1982.
39. RUBIN, E.; FARBER, J.L. *Patologia*. Rio de Janeiro, Interlivros. 1990. p.11-2, 1181.
40. SALLEY, J.J. Experimental carcinogenesis in the cheek pouch of the syrian hamster. *J. dent. Res.*, v.33, n.2, p.253-62, April 1954.
41. SALLEY, J.J. Histologic changes in the hamster cheek pouch during early hydrocarbon carcinogenesis. *J. dent. Res.*, v.36, n.1, p.48-55, Feb. 1957.
42. S'GRAVENMADE, E.J. et al. Some biochemical considerations of fixation in endodontics. *J. Endod.*, v.1, n.7, p.233-7, July 1975.
43. SWENBERG, J.A. et al. Induction of squamous cell carcinomas of the rat nasal cavity by inhalation exposure to formaldehyde vapor. *Cancer Res.*, v.40, n.9, p.3398-402, Sept. 1980.
44. W. H. O. Definition of leukoplakia and related lesions. An aid to studies on oral precancer. *Oral Surg.*, v.46, n.4, p.518-39, Oct. 1978.