

AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA DA RESPOSTA TECIDUAL À IMPLANTAÇÃO DE CONES DE GUTA-PERCHA COLORIDOS NOS TECIDOS CONJUNTIVOS SUBCUTÂNEO E INTRADÉRMICO DE RATOS*

*HISTOLOGIC RESPONSES OF THE SUBCUTANEOUS AND
INTRADERMAL CONNECTIVE TISSUES TO THE IMPLANTATION
OF COLORFUL GUTTA-PERCHA CONES*

Ana María RAMÍREZ MEJÍA

Aluna do curso de Pós-Graduação em Endodontia, ao nível de Mestrado, da FOB-USP.

Roberto Brandão GARCIA

Professor Doutor da Disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru - USP

* Trabalho apresentado à Faculdade de Odontologia de Bauru-USP, para obtenção do título de Mestre em Endodontia.

Recebido para publicação em 06/08/98

Avaliou-se microscopicamente a resposta dos tecidos conjuntivos subcutâneo e intradérmico de ratos à implantação de cones de gutta-percha coloridos. Foram inoculados segmentos de cones de gutta-percha na região dorsal intradérmica e subcutânea de 54 ratos, observando os períodos de 7, 21 e 60 dias. A análise microscópica revelou que os cones foram bem tolerados pelos tecidos, ocorrendo a formação de uma cápsula fibrosa que circunscreveu o material e a reorganização do tecido adjacente a esta. O procedimento de implantação foi mais favorável no tecido conjuntivo subcutâneo.

Unitermos: Guta-percha; Ratos; Tecido conjuntivo.

INTRODUÇÃO

A gutta-percha foi introduzida por Bowman, em 1867, como material obturador^{20,29} e a sua utilização persiste até hoje e, provavelmente, assim permanecerá por tempo indefinido^{2,14}.

É uma substância vegetal extraída sob a forma de látex.

Após a purificação do produto se acrescentam várias substâncias com o objetivo de melhorar suas propriedades físico-químicas e facilitar seu emprego na obturação de canais radiculares^{5,29}. Ela e o óxido de zinco constituem os componentes básicos dos cones usados em Endodontia. Em menor proporção aparecem metais, sulfatos, ceras e resinas. Os registros na literatura demonstram as notáveis

variações na composição básica dos cones de guta-percha^{6,15,29}. Dessa composição o produto final pode ser modificado cromaticamente pela adição de corantes¹⁹, surgindo os cones de guta-percha coloridos, correspondendo às cores dos instrumentos endodônticos²². Reconhecendo-se que, a guta-percha é considerada como uma substância bem tolerada pelos tecidos e esta característica pode ser modificada pelas diferentes substâncias a ela incorporadas; a adição de corantes à fórmula de fabricação dos cones poderia influenciar a resposta tecidual na região apical e periapical.

Os trabalhos de HOLLAND et al.⁷, HOLLAND et al.⁹, LEONARDO et al.¹², MONTOYA; SARMIENTO; MANRIQUE¹⁸, WOLFSON; SELTZER²⁰ e outros^{8,27,28,30} confirmam este conceito.

Os registros sobre os corantes adicionados aos cones de guta-percha são escassos e os mais recentes trabalhos citam a eritrosina¹⁶ e uma marca comercial de cones coloridos fornece os pigmentos presentes nesta²².

Diante da dificuldade de um material obturador preencher plenamente todas as propriedades biológicas exigidas, a tolerância tecidual, pela sua relevância, destaque-se das demais. Os trabalhos eminentemente histológicos, *in vivo*, visam obter uma avaliação mais próxima do real, salientando-se os testes em tecido conjuntivo subcutâneo de animais^{1,10}.

Frete a essas considerações e a fim de conhecermos melhor o comportamento biológico do material, propusemo-nos a avaliar microscopicamente a resposta dos tecidos conjuntivos subcutâneo e intradérmico de ratos à implantação de cones de guta-percha color codificados, quanto à intensidade da reação inflamatória e o grau de fibrosamento; e comparar as respostas histopatológicas observadas em ambos os tecidos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 54 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus Norvegicus-Albinus*), adultos jovens. Os animais foram divididos em três grupos de 18 elementos cada, de acordo com os períodos experimentais de 7, 21 e 60 dias. Cada grupo de 18 espécimes foi dividido em seis subgrupos de três ratos, conforme a coloração dos cones de guta-percha coloridos usados experimentalmente (branco, amarelo, vermelho, azul, verde e preto). Como controle

foram utilizados cones de coloração rosa, sendo implantados em todos os espécimes e em todos os períodos. Em todos os grupos foram implantados materiais da mesma marca comercial¹.

Cada rato recebeu quatro implantes realizados na região dorsal e distribuídos da seguinte maneira: dois cones de guta-percha de cor rosa controles (subcutâneo e intradérmico) e dois cones de guta-percha coloridos (subcutâneo e intradérmico).

Com a finalidade de se evitar a incorporação de pêlos durante o ato cirúrgico, realizou-se a tricotomia manual da região dorsal no dia anterior à implantação dos cones. No dia seguinte, após anestesia do animal pela inalação de éter etílico, realizou-se a anti-sepsia da área desprovida de pêlos. O procedimento cirúrgico consistiu primeiramente na introdução da agulha (calibre 18) no dorso do animal, em nível do tecido conjuntivo intradérmico, mantendo-a posicionada. Logo após, introduzia-se o segmento de cone de guta-percha, de 5mm de comprimento e diâmetro aproximado de 1,1mm, no interior da agulha. Os segmentos de cones foram previamente submetidos a processo de desinfecção com vapores de pastilhas de paraformaldeído¹¹ por um período de 4-5 horas^{3,13}. Com um fio ortodôntico, usado como êmbolo, levava-se o segmento de cone até o posicionamento desejado no interior do tecido. Após a implantação do cone, o ponto de inoculação da agulha foi suturado. Em seguida, procedeu-se a anti-sepsia final. Consecutivamente, realizava-se o mesmo ato cirúrgico em nível do tecido conjuntivo subcutâneo.

Após o final dos períodos, os animais foram sacrificados e as regiões dos implantes removidas. As peças foram fixadas em formol neutro a 10% durante 24 horas, posteriormente processadas de acordo com a técnica de rotina para inclusão em parafina e cortadas transversalmente na espessura de seis micrometros.

Os cortes foram corados pela técnica de Hematoxilina e Eosina (H.E) e analisados ao microscópio óptico binocular^{11,12}.

RESULTADOS

A avaliação da resposta tecidual, quer descritiva, quer quantitativa/ subjetiva, levou em consideração os seguintes fenômenos: a intensidade do infiltrado inflamatório; a proliferação fibroangioblástica e o grau de fibrosamento

* Dentsply Indústria e Comércio Ltda., Petrópolis, RJ

** Indústria Farmacêutica Rioquímica, SP, Brasil

*** Leitz Wetzlar, Germany

da cápsula sendo classificados como ausente, discreto, moderado e intenso recebendo os valores numéricos de 0, 1, 2 e 3, respectivamente. Posteriormente, determinou-se um valor numérico médio para cada fenômeno a fim de estabelecer parâmetros comparativos entre os grupos. As células do infiltrado inflamatório (PMNs, linfócitos, plasmócitos, macrófagos e CGMIs) foram classificadas da seguinte forma: (-) ausentes; (+) presentes; (++) predominantes.

Período experimental de 7 dias

-Tecido conjuntivo subcutâneo (tabela 1)

TABELA 1 - Escores médios atribuídos na análise microscópica dos grupos de implantação subcutânea controle e experimental de sete dias

GRUPOS	Controle	Branco	Amarelo	Vermelho	Azul	Verde	Preto
FENÔMENOS							
Infiltrado inflamatório	1,92	3	2	2	2,66	2,5	2,33
Células inflamatórias	PMNs	+	+	+	+	+	+
	Linfócito	+	+	+	+	+	+
	Plasmócito	+	+	+	+	+	+
	Macrófago	++	++	++	++	++	++
	CGMIs	-	-	-	-	-	-
Proliferação fibroblástica	2,30	2,66	2,33	2,33	3	2,5	2,33
Proliferação angioblástica	2,30	2,66	2,66	2,33	3	2,5	2,33
Grau de fibrosamento	1	1	1	1	1	1	1

Os espécimes caracterizavam-se pela presença de uma região eosinofílica, à guiza de cápsula, ricamente celularizada, circunscrevendo o material implantado porém, esta área era mais extensa e intensamente celularizada nos cones color codificados. Esta faixa ou banda tecidual estava composta por delicados feixes colágenos que denotavam o início de fibrosamento. A maior parte das células presentes neste tecido acompanhavam os feixes colágenos sendo morfologicamente compatíveis com fibroblastos jovens. Também se observavam, de permeio a este tecido, alguns macrófagos. O infiltrado inflamatório crônico era intenso, nos cones de cor branco, azul e verde (Figura 1). Nos cones de cor amarelo, vermelho e preto, este infiltrado inflamatório constituído predominantemente por macrófagos, era moderado, porém, discretamente mais

intenso que no grupo controle. A proliferação fibroangioblástica foi considerada de moderada a intensa devido às necessidades celulares e metabólicas do tecido conjuntivo neoformado.

-Tecido conjuntivo intradérmico (Tabela 2)

De forma semelhante ao grupo de implantação subcutânea, um processo inflamatório crônico de menor intensidade caracterizou os aspectos morfológicos dos espécimes de implantação intradérmica. A resposta tecidual do grupo experimental (Figura 2) era mais intensa quando comparada com o grupo controle.

Período experimental de 21 dias

-Tecido conjuntivo subcutâneo

Uma cápsula fibrosa bem definida, de espessura e grau de fibrosamento moderados envolvia os cones do grupo controle e experimental. A cápsula fibrosa, na maioria dos espécimes, estava constituída por um número moderado de fibroblastos dispostos de permeio às fibras colágenas sendo visualizadas ocasionais células inflamatórias do tipo PMNs, linfócitos e macrófagos. Perifericamente à cápsula, o

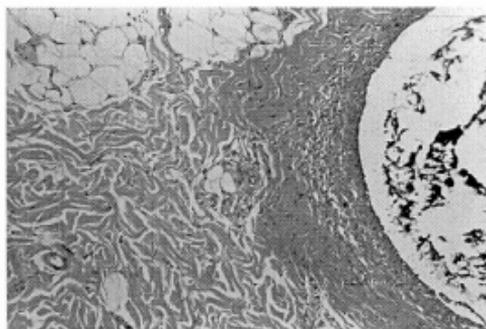


FIGURA 1 - Aspectos microscópicos representativos dos sub-grupos de implantação subcutânea dos cones de cor branca, azul e verde no período de sete dias. (aumento original = 40X; H.E.)

TABELA 2 - Escores médios atribuídos na análise microscópica dos grupos de implantação intradérmica controle e experimental de sete dias

GRUPOS	Controle	Branco	Amarelo	Vermelho	Azul	Verde	Preto
FENÔMENOS							
Infiltrado inflamatório	1,75	2	2,33	2	2,66	2,66	2,33
Células inflamatórias							
PMNs	+	+	+	+	+	+	+
Linfócito	+	+	+	+	+	+	+
Plasmócito	+	+	+	+	+	+	+
Macrófago	++	++	++	++	++	++	++
CGMIs	-	-	-	-	-	-	-
Proliferação fibroblástica	1,87	2	2,33	2,33	3	1,66	2,66
Proliferação angioblástica	1,87	1,66	2,33	2,33	3	1,66	2,66
Grau de fibrosamento	1	1	1	1	1	1	1

Período experimental de 60 dias

-Tecido conjuntivo subcutâneo (Tabela 3)

Aos 60 dias, os espécimes deste grupo caracterizavam-se por uma cápsula fibrosa de maior espessura e grau de fibrosamento intenso quando comparados aos do período de 21 dias (Figura 3). A população celular moderada, presente na cápsula, era constituída predominantemente por fibroblastos e no tecido adjacente à cápsula o infiltrado inflamatório crônico do tipo linfoplasmocitário apresentava-se discreto.

Neste período, a resposta tecidual induzida pelos cones color codificados destacou-se pela semelhança com a resposta exibida pelo grupo controle.

-Tecido conjuntivo intradérmico (Tabela 4)

Aos 60 dias de evolução, uma cápsula fibrosa semelhante à que acompanhou o material nos espécimes do grupo de implantação subcutânea, era evidente nos espécimes deste grupo. Os fenômenos inflamatórios denotavam uma resposta tecidual discreta semelhante à observada no grupo de implantação subcutânea.

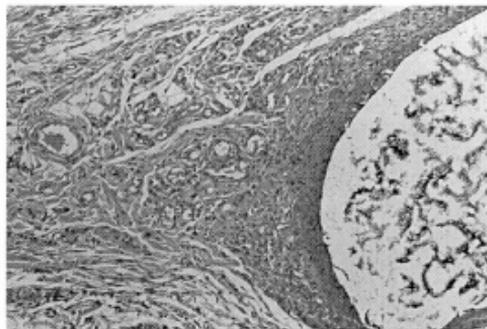


FIGURA 2 - Aspectos microscópicos representativo dos subgrupos de implantação intradérmica dos cones color codificados, no período de sete dias. (aumento original = 40X; H.E.)

infiltrado inflamatório crônico era discreto e de menor intensidade que no período inicial, com predominância de macrófagos. A proliferação fibroangioblástica adjacente à cápsula fibrosa era discreta, portanto, de menor intensidade às observadas no período inicial de sete dias.

-Tecido conjuntivo intradérmico

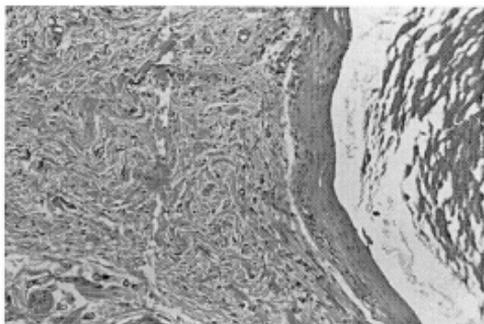
Neste grupo também era evidente uma cápsula com grau de fibrosamento e espessura moderados delimitando o material. Não raro os macrófagos continham pigmentos de hemossiderina no interior do seu citoplasma.

DISCUSSÃO

O estudo da agressão química de diferentes medicamentos e soluções, utilizados na terapia endodôntica, injetando-os na região intradérmica, sugeriram que este tecido representa um local apropriado para a avaliação biológica de materiais endodônticos, pois permite uma observação precisa da intensidade da resposta inflamatória²⁵. Todavia, neste trabalho, observamos que a espessura e o grau de fibrosamento do tecido intradérmico dificultaram o procedimento de implantação do material. A agulha hipodérmica utilizada para a implantação dos cones de guta-percha, ultrapassava facilmente a região intradérmica, alcançando o tecido subcutâneo; a lisura superficial do material permitia seu deslocamento, favorecendo seu retorno para o meio externo quando da remoção da agulha. Tais circunstâncias exigiram um melhor

TABELA 3 - Escores médios atribuídos na análise microscópica dos grupos de implantação subcutânea controle e experimental de 60 dias

GRUPOS	Controle	Branco	Amarelo	Vermelho	Azul	Verde	Preto
FENÔMENOS							
Infiltrado inflamatório	1,06	1	1	0,66	1	1	1,33
Células inflamatórias							
PMNs	+	+	+	+	+	+	+
Linfócito	+	+	+	+	+	+	+
Plasmócito	+	+	+	+	+	+	+
Macrófago	++	++	++	++	++	++	++
CGMs	-	-	-	-	-	-	-
Proliferação fibroblástica	1	1	1,33	1	1,33	1	1,33
Proliferação angioblástica	1	1	1,33	1	1,33	1	1,33
Grau de fibrosamento	3	3	3	3	3	3	3

**FIGURA 3** - Aspectos microscópicos representativo dos subgrupos de implantação subcutânea dos cones de guta-percha color codificados no período de 60 dias (aumento original = 40X; H.E.)

adestramento na técnica, bem como a realização de um ponto de sutura no lugar de inserção da agulha. Por outro lado, a técnica no tecido subcutâneo foi relativamente simples e rápida, exigindo menor destreza. Porém, quando da obtenção das peças para o processamento histológico, o material era mais facilmente localizado no tecido intradérmico.

O emprego da agulha hipodérmica para implantação dos cones de guta-percha permitiu um procedimento cirúrgico que, além de simples, minimizou o trauma e diminuiu a probabilidade de infecção.

Devido à textura tecidual a resposta inflamatória e o processo de reparo apresentaram-se discretamente menos extensos no tecido intradérmico. Nos tecidos frouxos, como o tecido conjuntivo subcutâneo, o infiltrado inflamatório facilmente se estende às áreas circunvizinhas, não acontecendo da mesma forma nos tecidos denso-fibrosos, altamente resistentes^{23,25}. Todavia, constatamos que no período de experimentação mais longo, as diferenças entre a resposta tecidual dos cones implantados no tecido subcutâneo e intradérmico diminuíram, logo após a instalação

do processo de reparo.

No período de sete dias a intensidade do infiltrado inflamatório crônico variou entre os subgrupos. A resposta tecidual foi discretamente mais favorável nos cones do grupo controle (rosa) implantados no tecido subcutâneo e intradérmico (Tabelas 1 e 2). Esta diferença provavelmente está relacionada com os diferentes constituintes dos cones de guta-percha, associados ou não aos vários corantes adicionados. Nos períodos de experimentação mais extensos, a diferença na resposta tecidual entre os cones rosa e coloridos, foi decrescendo (Tabelas 3 e 4).

O estímulo à proliferação e à diferenciação celular durante o período de sete dias é comprovada pela presença de numerosas células compatíveis com fibroblastos jovens e células endoteliais comparando o material implantado no tecido subcutâneo e intradérmico.

A persistência da guta-percha no tecido permitiu o estabelecimento do processo reparatório em todos os espécimes dos grupos subcutâneo e intradérmico caracterizado pelo encapsulamento do material implantado e reorganização do tecido circunjacente. A resposta inflamatória tecidual sugere que, de alguma forma, o organismo reconheceu a guta-percha como estranha porém esse reconhecimento não propiciou a formação de um granuloma tipo corpo estranho^{12,26}. Reforçando, assim, a boa tolerância da guta-percha como material de obturaçã dos canais radiculares. Agentes flogógenos inertes como a guta-percha quando implantados sob a forma de pequenas partículas induzem a formação de granulomas de baixa

TABELA 4 - Escores médios atribuídos na análise microscópica dos grupos de implantação intradérmica controle e experimental de 60 dias

GRUPOS	Controle	Branco	Amarelo	Vermelho	Azul	Verde	Preto
FENÔMENOS							
Infiltrado inflamatório	0,93	1	0,66 [*]	1	1	1,33	0,66
Células inflamatórias							
PMNs	+	+	+	+	+	+	+
Linfócito	+	+	+	+	+	+	+
Plasmócito	+	+	+	+	+	+	+
Macrófago	++	++	++	++	++	++	++
CGMIs	-	-	-	-	-	-	-
Proliferação fibroblástica	1	1	0,66	1	1	1	0,66
Proliferação angioblástica	1	1	0,66	0,66	1	1	1
Grau de fibrosamento	3	3	3	3	3	3	3

renovação celular ou do tipo corpo estranho caracterizados pela presença de macrófagos e CGMIs^{27,31}. SJÖGREN; SUNDQVIST; NAIR²⁶ demonstraram a importância do tamanho e da característica superficial da guta-percha na determinação do tipo de resposta tecidual. Estes autores evidenciaram, após a implantação de partículas de guta-percha de diferentes tamanhos no tecido conjuntivo de animais de experimentação, a resposta inflamatória mais intensa, com presença de CGMIs, em volta das menores partículas usadas em seu trabalho (50µm).

HOLLAND et al.⁷⁹, LEONARDO et al.¹² e ZMENER et al.³¹, ao compararem a implantação em tecido subcutâneo de rato de diferentes marcas de cones de guta-percha, citam a presença moderada das CGMIs nas formulações de guta-percha, que demonstraram os estímulos inflamatórios de maior intensidade. Os autores concluíram que algum componente de algumas das marcas de guta-percha favoreceu esse tipo de resposta tecidual.

A espessura da cápsula, o grau de fibrosamento e sua população celular são utilizados como parâmetro de avaliação da intensidade da agressão de um determinado material¹⁷. Neste trabalho, verificamos que a espessura e o grau de fibrosamento da cápsula, que circunscreveu os cones de guta-percha, aumentou proporcionalmente nos períodos de experimentação e variou de um espécime para outro sem guardar uma relação aparente entre um grupo ou outro. Um maior estímulo flogógeno é relacionado tanto à formação de cápsulas fibrosas mais espessas circunscrevendo a guta-percha^{79,17}, quanto à presença de

cápsulas fibrosas irregulares e desorganizadas^{11,27}.

No tecido apical e periapical a presença da cápsula fibrosa é relacionada ao extravasamento apical do material obturador. SJÖGREN; SUNDQVIST; NAIR²⁶ sugerem que este evento estimula a presença de células de defesa, tais como macrófagos e CGMIs, que estão vinculadas ao processo de destruição óssea no periápice, através da liberação de mediadores químicos como citocinas e fatores de crescimento que favorecem a reabsorção deste tecido ósseo. SERENE; VESELY; BOACKLE²⁴ concluíram que o me-

canismo de ativação do sistema complemento C₃ pela guta-percha, esclarece como a so-breobturação do canal radicular favorece os eventos inflamatórios e portanto a reabsorção óssea periapical. Os trabalhos permitem observar a preocupação em se respeitar o limite apical da obturação.

As diferentes respostas biológicas induzidas pela guta-percha nos diversos trabalhos científicos, não têm explicações definitivas. Diferenças na metodologia, nas características físicas do material (forma, tamanho, superfície), no local do implante, no trauma cirúrgico, no animal de experimentação, na solubilidade do material assim como na interpretação dos resultados são alguns aspectos que dificultam a comparação dos resultados nos estudos de avaliação biológica dos materiais^{1,426}. A resposta tecidual à guta-percha requer explicações mais precisas e específicas. A influência das diferentes substâncias a ela incorporadas pode interferir nas suas propriedades biológicas.

Sob as condições experimentais a que foram submetidos os cones de guta-percha coloridos neste trabalho, os mesmos revelaram-se biologicamente aceitáveis. A avaliação biológica de novas formulações de materiais obturadores do canal radicular, inclusive da guta-percha, deve ser uma preocupação constante dos pesquisadores da área endodôntica. O material obturador ideal ainda não existe, entretanto sua busca continua.

CONCLUSÕES

As condições experimentais do trabalho e os resultados obtidos nos permitem concluir o seguinte:

- Os cones de gutta-percha coloridos implantados no tecido conjuntivo subcutâneo e intradérmico foram bem tolerados pelo tecido. A resposta tecidual se caracterizou pela formação de uma cápsula fibrosa que circunscreveu o material e a reorganização do tecido conjuntivo adjacente.
- As respostas inflamatória e de reparo tecidual à implantação dos cones de gutta-percha, em todos os períodos da experimentação, não apresentaram diferenças marcantes entre os tecidos subcutâneo e intradérmico.
- O procedimento de implantação do material estudado foi mais favorável no tecido conjuntivo subcutâneo.

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate histologic responses of the subcutaneous and intradermal connective tissue to the implantation of colorful gutta-percha cones. Segments of gutta-percha cones were implanted into the dorsal area of 54 rats, in the subcutaneous and intradermal tissues from each animal. At harvesting periods of 7, 21 and 60 days the animals were sacrificed. Microscopic analysis revealed that colorful gutta-percha cones implanted in the connective tissue were well tolerated. Tissue responses were characterized by the formation of a fibrous capsule, circumscribing the implant, and the reorganization of the connective tissue surrounding it. Implantation procedures were more favorable in the subcutaneous tissue.

UNITERMS: Gutta-percha; Rats; Conjunctive tissue.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- BERNABÉ, P.F. Estudo histológico da reação do tecido conjuntivo subcutâneo do rato ao implante de alguns materiais utilizados nas obturações retrógradas dos canais radiculares. São Paulo, 1977. 95p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.
- 2- BRZozowski, M.E. A obturação do sistema radicular. Uma breve revista da literatura e estado atual da questão. São Paulo, 1994. 91p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.
- 3- BUCHBINDER, M. Sterilization of cotton points and gutta-percha points. Description of a technique. *N. Y. J. Dent.*, v. 36, n. 6, p. 200-1, 1966.
- 4- FRANQUIN, J.C.; SALOMON, J.P. Methodologie d'une technique normalisée pour l'évaluation de la biocompatibilité osseuse des matériaux d'obturation canalaires: II. Résultats histologiques sur deux matériaux: la gutta-percha et l'oxyde de zinc eugénol. *Inform. dent.*, v. 68, n. 33, p. 3197-209, Sept. 1986.
- 5- FRIEDMAN, C. et al. Composition and physical properties of gutta-percha endodontic filling materials. *J. Endod.*, v. 3, n. 8, p. 304-8, Aug. 1977.
- 6- GOLDBERG, F. et al. SEM study of surface architecture of gutta-percha cones. *Endod. dent. Traumat.*, v. 7, n. 1, p. 15-8, Feb. 1991.
- 7- HOLLAND, R. et al. Resposta tecidual à implantação de diferentes marcas de cones de gutta-percha. Estudo histológico em ratos. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, v. 4, n.1, p. 81-9, jan./jun. 1975.
- 8- HOLLAND, R. et al. Behaviour of the human periapical tissue to root canal filling with Caulk gutta-percha cones. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, v. 7, n. 2, p. 163-7, 1978.
- 9- HOLLAND, R. et al. Reaction of rat connective tissue to gutta-percha and silver points. A long-term histological study. *Aust. dent. J.*, v. 27, n. 4, p. 224-6, Aug. 1982.
- 10- INTERNATIONAL ORGANIZATION OF STANDARDIZATION. *Biological evaluation of medical devices-Part 6: tests for local effects after implantation.* Genève, ISO, 1994. /ISO 10993-6/
- 11- LEAL, J.M. Materiais obturadores de canais radiculares. In: LEONARDO, M.R.; LEAL, J.M. *Endodontia: tratamento dos canais radiculares*, São Paulo, Panamericana, 1991, p. 348-403.
- 12- LEONARDO, M.R. et al. A comparison of subcutaneous connective tissue responses among three different formulations of used in thermatic techniques. *Int. Endod. J.*, v. 23, n. 4, p.211-7, July 1990.
- 13- LITTEr, M. Farmacología de los procesos infecciosos. In: _____. *Farmacología experimental y clínica*. 7. ed. Buenos Aires, El Atenco, 1986. p.1414.
- 14- MAISTO, O.A. Filosofia y objetivos de la obturación de conductos radiculares. *Rev. Asoc. odont. argent.*, v. 67, n. 6, p. 293-7, ago. 1979.
- 15- MARCIANO, J.; MICHAILESKO, P. Dental gutta-percha: chemical composition, x-ray identification, enthalpic studies, and clinical implications. *J. Endod.*, v. 15, n. 4, p. 149-5, Apr. 1989.
- 16- MARCIANO, J.; MICHAILESKO, P.; ABADIE, M.J.M. Stereochemical structure characterization of dental gutta-percha. *J. Endod.*, v. 19, n. 1, p. 31-4, Jan. 1993.
- 17- MITCHELL, D.F. The irritational qualities of dental materials. *J. Amer. dent. Ass.*, v. 59, p. 954-66, Nov. 1959.

- 18- MONTOYA, L.E.; SARMIENTO, J.; MANRIQUE, H. Respuesta histológica de los tejidos de ratones al implantar diferentes conos de gutapercha. *Acta clín. odont.*, v. 15, n. 28, p. 11-4, jul/dic. 1992.
- 19- PELI, J.F.; PELI-JOINEAU, C. La gutta-percha et les ciments de scellement: pourquoi?, **ENDO: Rev. franç. Endod.**, v.11, n. 3, p. 68, sept. 1992.
- 20- PIERCE, L. A.; GROSSMAN, L.I. A brief history of root canal therapy in the United States. *J. Amer. dent. Ass.*, v.32, p. 43-50, Jan. 1945.
- 21- ROBBINS, S.L.; COTRAN, R.S.; KUMAR, V. **Patologia estrutural e funcional**. 4. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991.
- 22- ROCCA, J.P. Spectrapoints ou la gutta-percha en couleurs. **ENDO: Rev. franç. Endod.**, v.11, n. 3, p. 68, sept. 1992.
- 23- ROSS, M.H.; ROMRELL, L.J. **Histologia**. 2. ed. São Paulo, Panamericana, 1993.
- 24- SERENE, T.P.; VESELY, J.; BOACKLE, R.J. Complement activation as a possible in vitro indication of the inflammatory potential of endodontic materials. *Oral Surg.*, v. 65, n. 3, p. 354-7, Mar. 1988.
- 25- SHILDER, H.; AMSTERDAM, N. Inflammatory potential of root canal medicaments. A preliminary report including nonspecific drugs. *Oral Surg.*, v. 12, n. 2, p. 211-21, Feb. 1959.
- 26- SJÖGREN, U.; SUNDQVIST, G.; NAIR, P.N.R. Tissue reaction to gutta-percha particles of various sizes when implanted subcutaneously in guinea pigs. *Eur. J. oral Sci.*, v. 103, n. 5, p. 313-21, Oct. 1995.
- 27- TAVARES, T.; SOARES, I.J.; SILVEIRA, N.L. Reaction of rat subcutaneous tissue to implants of gutta-percha for endodontic use. *Endod. dent. Traumat.*, v. 10, n. 4, p.174-8, 1994.
- 28- UTRILLA, L.S. et al. Estudo comparativo do comportamento dos tecidos apicais e periapicais frente a duas técnicas de obtenção de canais radiculares com gutta-percha termoplastificada. *Revista bras. Odont.*, v. 52, n. 2, p. 32-8, mar/abr. 1995.
- 29- WOLFSON, E.M.; SELTZER, S. Reaction of rat connective tissue to some gutta-percha formulations. *J. Endod.*, v. 1, n. 12, p. 395-402, Dec. 1975.
- 30- ZMENER, O.; GOLDBERG, F.; CABRINI, R.L. Effects of two gutta-percha formulations and one zinc oxide-eugenol and Canada balsam mixture on human blood monocytes and lymphocytes. *Endod. dent. Traumat.*, v. 5, n. 2, p.73-7, Apr. 1989.
- 31- ZMENER, O. et al. Biocompatibility of a thermoplasticized gutta-percha in the subcutaneous connective tissue of rat. *J.dent. Res.*, v. 67, n. 4, p. 616, Apr. 1988. /Abstract n. 16/