

Compósito de colágeno com silicato e hidroxiapatita como material para endodontia: preparação e caracterização

Collagen composite with silicate and hydroxyapatite as endodontic material: preparation and characterization

Resumo

Objetivo: Este trabalho teve por objetivo preparar e caracterizar um novo compósito de colágeno com silicato e hidroxiapatita que possa vir a ser utilizado como material endodôntico em capeamento pulpar direto e em pulpotomia.

Metodologia: Os materiais utilizados como matéria-prima foram colágeno do tipo I na forma aniônica, silicato (cimento Portland Branco) e hidroxiapatita sintetizada. Estes materiais foram misturados em proporções variadas de modo a obter um material compósito na forma de pasta. Os materiais obtidos foram caracterizados por técnicas de calorimetria exploratória diferencial, termogravimetria, microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectrometria de dispersão de energia de Raios-X e espectroscopia na região do infravermelho.

Resultados: A presença de colágeno no compósito foi demonstrada por transições térmicas típicas daquelas encontradas para o colágeno do tipo I (~48°C), independentemente da proporção utilizada, e também por imagens de MEV, onde as fibras colagênicas também puderam ser observadas interligando as partículas de silicato. A composição química de todos compósitos de colágeno foi praticamente idêntica à do silicato utilizado.

Conclusão: Os resultados mostraram que a estrutura da matriz de colágeno nos compósitos testados não foi alterada. Esta é uma característica importante para a utilização em endodontia do material compósito proposto, objetivando uma reparação tecidual de forma "mais natural".

Palavras-chave: Colágeno; silicatos; compósitos; endodontia

Abstract

Purpose: This study aimed to prepare and characterize a new collagen composite with silicate and hydroxyapatite as a potential endodontic material for pulp capping and pulpotomy.

Methods: Anionic type I collagen was mixed with silicate (White Portland cement) and hydroxyapatite in several proportions. The materials were characterized by standard differential scanning calorimetry, thermogravimetry, scanning electron microscopy (SEM), energy dispersion x-ray, and infrared spectrometry.

Results: The presence of collagen in the composite was observed by means of typical thermal transitions for collagen type I (~48°C), independently from the proportion used. SEM images showed collagen fibers interconnecting silicate particles. The chemical composition of all collagen composites was essentially the same as that of the original silicate.

Conclusion: These results showed that the collagen matrix structure of the tested composite was not altered, which is an important feature for a "more natural" tissue repair in Endodontics.

Key words: Collagen; silicate; hydroxyapatite; endodontics

**Miguel Antônio Menezes E'Gues^a
Márcio de Paula^b
Gilberto Goissis^b**

^a Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia (USP/São Carlos), Escola de Engenharia de São Carlos (EESC), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Instituto de Química de São Carlos (IQSC), São Carlos, SP, Brasil

^b Departamento de Química e Física Molecular do Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo (IQSC/USP), São Carlos, SP, Brasil

Correspondência:

Márcio de Paula
Laboratório de Bioquímica/Biomateriais.
Departamento de Química e Física Molecular do
Instituto de Química de São Carlos, Universidade
de São Paulo.
Av. Trabalhador Sancarlenso 400. CP 780
São Carlos, SP – Brasil
13560-970
E-mail: marcio@iqsc.usp.br

Recebido: 22 de novembro, 2006
Aceito: 29 de fevereiro, 2008

Introdução

Apesar da constante evolução de técnicas e materiais, ainda há dúvidas sobre reparação tecidual em casos de perfurações, reabsorções, capeamento pulpar e dentes que sofreram cirurgias parodontais (1). Vários materiais têm sido utilizados em Endodontia (2), mas alguns estudos histológicos associados à incapacidade de prevenir o acesso de agentes irritantes provenientes dos tecidos periodontais aos canais infectados têm mostrado a completa falta de biocompatibilidade destes materiais (3). Em meados da década de 90, uma nova classe de materiais, o agregado de trióxido mineral (MTA), foi introduzida no campo de pesquisas em biomateriais (4). As propriedades desse material proporcionaram um grande leque de utilização em Endodontia com excelentes resultados no tratamento de perfurações endodônticas (5), reparação de perfurações de furca (6), perfurações radiculares laterais (7) e infiltração bacteriana (8). Entretanto, seu custo elevado tem incentivado a busca de produtos alternativos. Um deles é o cimento Portland não-estrutural (9), o qual, além de barato e de grande facilidade de aquisição, tem-se mostrado muito promissor no tratamento pulpar (10). Este sucesso deve-se à grande similaridade com o MTA em sua estrutura microscópica e composição química (11), como também na atividade bacteriana (12) e no efeito em células pulpares quando utilizado como material de capeamento pulpar (13). A hidroxiapatita (HA), $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, tem tido grande aceitação em Odontologia devido ao alto grau de biocompatibilidade e osteocondutividade (14), que provavelmente está associado à similaridade química com os materiais comumente encontrados no tecido ósseo (15). Um dos maiores problemas na utilização da hidroxiapatita na forma particulada é a sua dispersão para os tecidos moles, causando problemas como a redução da zona de correção e desconforto para o paciente, podendo requerer uma nova cirurgia. Desta forma, a utilização de materiais na forma de pasta é uma boa alternativa para evitar tais problemas. De modo particular, o que não ocorre com qualquer material rígido, tais implantes podem ajustar-se perfeitamente aos defeitos, sem haver necessidade de moldagem prévia, já que podem ser moldados *in situ*, assegurando melhor ajuste aos tecidos circundantes. A combinação da hidroxiapatita com colágeno tem sido sugerida, pois o colágeno, além de ser um bom suporte para crescimento celular (16), constitui-se em um agente de união biocompatível (17), biodegradável, osteoindutivo (19) e reabsorvível (20), responsável pela prevenção da migração de partículas até incorporação pelos tecidos. Este trabalho descreve a preparação e a caracterização de um material compósito de colágeno e hidroxiapatita associado a silicato para possível aplicação em capeamento pulpar e pulpotomia.

Metodologia

Preparação do gel de colágeno aniônico (CA)

O colágeno foi solubilizado a partir da submucosa intestinal porcina após 24h de tratamento em solução alcalina (21)

contendo hidróxidos, cloretos e sulfatos de Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , seguido de estabilização com uma solução de cloretos e sulfatos destes cátions. Os sais residuais foram removidos por lavagens sucessivas com H_3BO_3 3% (3×, 6h), EDTA 0,3% a pH 11 (3×, 6h) e água destilada (6×, 2h). Finalmente, o colágeno foi extraído com uma solução de ácido acético pH 3,5, de forma que a concentração final de colágeno correspondeu a 10mg/g determinada por hidroxiprolina.

Cimento Portland (CPB)

O Cimento Portland Branco (estrutural) foi obtido comercialmente (Irajazinho, Votorantim-Cimentos, Votorantim, SP, Brasil) e, antes de seu uso, foi calcinado até 500°C por 1h para eliminação de compostos orgânicos; em seguida, foi armazenado em dessecador.

Hidroxiapatita (HA) (22)

Foi sintetizada a partir de uma solução 1,00M de nitrato de cálcio tetrahidratado, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, e solução 0,60M de fosfato ácido de amônio, $(NH_4)_2HPO_4$, ajustando o pH das soluções entre 11,0 e 12,0 com hidróxido de amônio concentrado. A síntese foi feita em atmosfera de nitrogênio.

Compósitos

As preparações dos materiais de estudo foram divididas em três grupos:

- Grupo 1 – Cimento Portland Branco+Água (CPBW): adicionou-se 3,0g de cimento Portland Branco calcinado a 500° C por 1h em 1,0mL de água destilada. Homogeneizou-se até obter a consistência de pasta.
- Grupo 2 – Cimento Portland Branco+Hidroxiapatita+Água (CPBHAW): adicionou-se 2,4g de cimento Portland branco calcinado a 500° C a 0,6g de HA sintética, com tamanho de partícula menor que 100 *mesh*, em 1,2mL de água destilada. Homogeneizou-se até obter a consistência de pasta.
- Grupo 3 – Cimento Portland Branco+Hidroxiapatita+colágeno (CPBHAC): adicionou-se 2,4g de cimento Portland Branco calcinado a 500° C a 0,6g de HA sintética. Esta mistura foi tamizada (100 *mesh*) e em seguida adicionada lentamente sobre 1,0g de gel colágeno aniônico a 1%. Homogeneizou-se até obter a consistência de pasta.

Caracterização

Análise Termogravimétrica (Tg): as curvas de Tg foram obtidas em atmosfera dinâmica de nitrogênio em um equipamento TGA 2050 (TA Instruments, New Castle, DE, EUA), na faixa de temperatura de 25 a 900°C, com razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹ e massas de amostra de aproximadamente 10mg.

Espectroscopia de Infravermelho (FTIR): os espectros na região do infravermelho das amostras, foram obtidos em um aparelho BOMEM Modelo MB-102 (Bomem, Quebec, Canadá), no intervalo entre 400 a 4000cm⁻¹, com resolução de cm⁻¹.

Difração de Raio-X: os difratogramas de raio-X das amostras foram obtidos através de um difratômetro universal modelo URD-6 Carl-Zeiss (Carl-Zeiss, Jena, Alemanha), com potência de 40kV, 20mA e radiação de $CuK\alpha$ 1,5406Å. O difratograma obtido foi comparado com padrões encontrados na literatura através do banco de dados JCPDS (*Joint Committee on Powder Diffraction Standards*, 1994).

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV): as fotomicrografias de MEV foram obtidas em um equipamento LEO com um detector Oxford (Cambridge, Inglaterra), operando com feixe de elétrons de 20keV. As amostras foram recobertas com 20nm de ouro em um metalizador Balsers modelo SDC 050 (Liechtenstein, Alemanha) e mantidas em dessecador até o momento da análise.

Espectroscopia de Dispersão de raios-X (EDX): utilizou-se um equipamento EDX Link Analytical, modelo QX 2000, acoplado a um microscópio eletrônico de varredura Zeiss, modelo LEO 440. As amostras foram preparadas como descrita para MEV, mas com recobrimento de carbono de 30nm. Para análise, utilizou-se um feixe de elétrons de 20keV e uma distância de 25mm do canhão até a amostra. Os resultados apresentados referem-se à média de cinco pontos.

Verificação da Radiopacidade do Compósito em relação ao dente humano com RX: utilizou-se filme radiográfico periapical da marca Kodak® e aparelho de raios-X com ampola gradeada e cilindro orientador de feixe. Foram simulados preparos cavitários em dentes humanos extraídos (molares, pré-molares e incisivos) para realização de capeamento direto e preparo cavitário para pulpotomia. Preparou-se o compósito e fez-se a inserção do mesmo nos dentes. Como o dente tem uma anatomia pulpar variável as padronizações das tomadas radiográficas foram feitas no sentido ocluso-pulpar mantendo espessura de 2mm abaixo da guta-percha. Em seguida, realizou-se a tomada radiográfica segundo protocolo padrão em clínica odontológica.

Resultados e Discussão

Caracterização dos materiais

Os dados obtidos com as técnicas utilizadas para a caracterização da hidroxiapatita mostraram que sua síntese foi bem sucedida. A avaliação qualitativa da HA sintetizada realizada por espectrometria de dispersão de energia de Raios-X (EDX), mostrou que o material preparado continha apenas Ca e P através da presença de apenas três picos (Fig. 1), sendo

dois picos referentes ao Ca em 3,69 (camada K) e 3,98keV (camada L) e um referente ao P em 2,013keV (camada K). Este resultado permite concluir que a HA sintetizada não apresentou contaminantes que poderiam ter sido incorporados durante o processo de síntese. Seu espectro de infravermelho mostrou bandas de absorção características de íons fosfatos (PO_4^{3-}) em 570, 962 e 1050 cm^{-1} ; uma banda larga e fraca em 3417 cm^{-1} e uma banda estreita em cerca de 3569 cm^{-1} , característica de moléculas de água estruturais ou adsorvidas e aos íons OH^- , respectivamente; uma banda em 870 cm^{-1} referente a ligação P-OH (Fig. 2). Para verificar se o processo de preparação do colágeno e dos compósitos com HA e CPB não provocaram desnaturação do colágeno, analisaram-se as preparações através de absorção no infravermelho e análise térmica (Tg e DSC). Os espectros na região do infravermelho (Fig. 2B) apresentam valores da relação das absorbâncias das bandas em 1235 e 1450 cm^{-1} (referentes à amida III e à ligação C-H do anel pirrolidínico, respectivamente) próximos de 1, mostrando que a tripla hélice do colágeno está preservada, visto que estruturas desnaturadas apresentam valores próximos de 0,5 (23). As curvas DSC obtidas para o compósito apresentam transições referentes à desnaturação do colágeno em torno de 40°C, confirmando o resultado já obtido por espectroscopia no infravermelho, visto que o colágeno desnaturado não apresenta transição térmica nesta faixa. Por outro lado, as curvas Tg mostraram uma quantidade de material residual em torno de 1,4% para colágeno, 94,8% para hidroxiapatita e 77,9%, sugerindo uma pequena quantidade de carbonato que pode ter sido incorporado durante a síntese da HA (24) (Tabela 1).

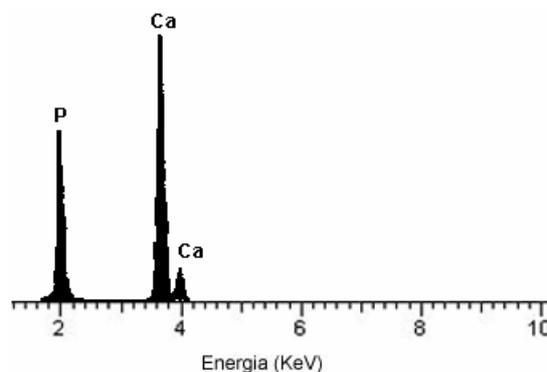


Fig. 1. Espectro de EDX para a HA sintetizada

Tabela 1. Perda de massa das preparações obtidas das respectivas curvas termogravimétricas.

Material	% peso			Resíduo (%) T > 800 °C
	20-200 °C	200-500 °C	500-800 °C	
Colágeno	19,9	47,8	30,6	1,4
HA	0,6	1,9	0,7	94,8
CPB	0,7	0,5	21,2	77,6
CPBHAC	1,4	1,4	19,3	77,9

Os espectros de difração de raios-X dos compósitos apresentaram perfil semelhante ao espectro obtido da hidroxiapatita (Fig. 2A – JCPDS 9-0432) com picos em 2,82; 2,79; 2,73 e 3,45 graus. Isto era esperado, pois o colágeno não apresenta difratograma característico por não ser uma amostra cristalina.

Na análise do Compósito (CPBHAC), pode ser observada uma diminuição da intensidade das bandas de amida I e de amida III do colágeno. Bandas das vibrações do grupo fosfato e água presentes também na HA e CPB podem ser observadas em torno de 1000cm⁻¹ e 3300cm⁻¹, respectivamente.

Verificação da Radiopacidade do Compósito (CPBHAC) em relação ao Dente Humano com Raios-X

Embora não tenha sido detectado bismuto através das medidas de EDX, as tomadas radiográficas com filme periapical mostraram que o grau de radiopacidade do compósito CPBHAC (Fig. 3A) foi semelhante ao apresentado pela dentina (25) no dente humano (Fig. 3B e 3C), estando de acordo com as especificações ISO 4049 (26). Este resultado contribui para a preservação de um capeamento pulpar direto ou após pulpotomia, onde a

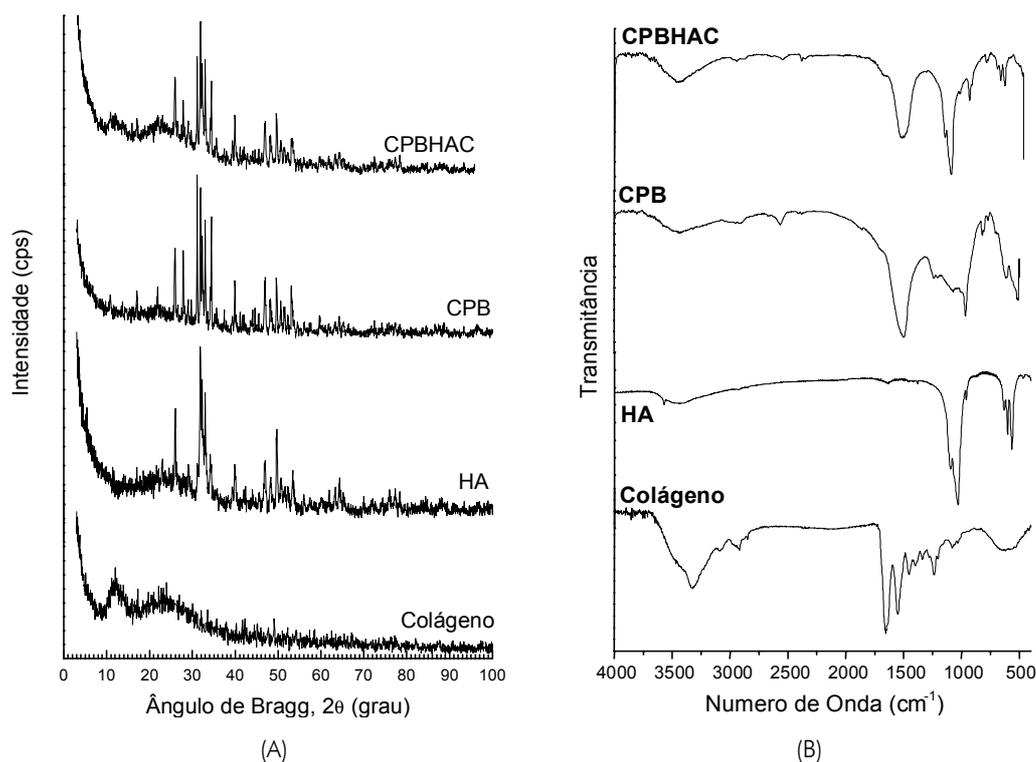


Fig. 2. Comparação entre os difratogramas (A) e os espectros na região do Infravermelho (B) para as diferentes preparações.

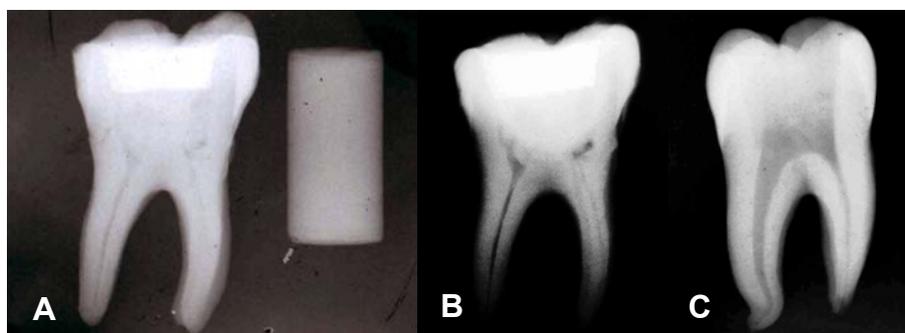


Fig. 3. (A) Raio-X periapical de um dente com compósito de Cimento Portland+Hidroxiapatita+Colágeno 24h na câmara pulpar ao lado do cilindro da amostra; (B) Dente com compósito no interior da câmara pulpar; (C) Dente preparado para pulpotomia.

câmara pulpar é totalmente preenchida pelo material compósito e a sua detecção pode ser verificada pelo exame radiográfico.

Análise de MEV e EDX

Para analisar a morfologia das diferentes preparações, foram obtidas fotomicrografias de MEV, pois a análise de superfície pode fornecer uma indicação de biocompatibilidade do material (27) além de mostrar a estrutura física das preparações. A fotomicrografia de MEV do cimento Portland: água (Fig. 4A) mostra pequenos grãos de cimento e maior quantidade de agregação devido à presença de água, que ocorre pelo fato do material ser composto por partículas pequenas. Já o compósito cimento:água:hidroxiapatita (Fig. 4B) apresenta um aspecto mais homogêneo quando comparados com cimento Portland:água (Fig. 4A), pois a HA apresenta grãos com variação de forma e tamanho pela agregação do precipitado, uma vez que a síntese foi realizada em via úmida. O aspecto da micrografia da Fig. 4C não difere aparentemente daquelas do cimento Portland original, sendo difícil observar filamentos da matriz de colágeno. A Fig. 4C parece indicar a presença de colágeno (setas amarelas), podendo-se observar um material filamentososo na superfície. Embora a presença de colágeno não pudesse ser evidenciada de modo claro nas micrografias de MEV, sua presença ficou demonstrada por análise térmica (Tabela 1). A Fig. 4C mostra grãos de HA que, embora não sejam uniformes devido a síntese ter sido realizada em via úmida, estão agregados às fibras de colágeno. Esta agregação forneceu um compósito com consistência de pasta, com partículas de HA recobertas com estruturas filamentosas.

O pH, desde o início do preparo do compósito (CPBHAC) no tempo inicial ($t=0$), mostrou-se altamente alcalino (em

torno de 12), o que é um resultado importante, pois este pH é essencial para a ativação da fosfatase alcalina, ocorrendo inibição do sistema enzimático de reabsorção. Isto demonstra que o material torna o meio inóspito para o crescimento de bactérias, mantendo seu potencial antibacteriano por período prolongado além de ser hemostático.

Outra característica observada durante a preparação foi que a composição química do CPB associado ao colágeno e à HA parece conferir propriedades hidrofílicas ao compósito, resultando inicialmente em um material na forma de pasta. À medida que ocorre a reação de presa, o material sofre ligeira expansão. Isto seria interessante para uma possível aplicação clínica, pois poderia promover bom selamento das paredes cavitárias.

A análise de EDX para os materiais utilizados e para o compósito mostrou que o cimento Portland é um material extremamente heterogêneo (Tabela 2, grupo 1). Se considerarmos a sílica, por exemplo, sua concentração em diferentes regiões do material variou entre 0,18 a 8,05%. Variações similares foram observadas também para Mg, Al, P e Ca, embora as variações quantitativas nas concentrações não mostrassem correlação com a área analisada. As mesmas observações foram verdadeiras para os compósitos (cimento Portland:HA e cimento Portland:HA:colágeno).

As análises químicas de Hg e Pb determinadas por EDX (Tabela 2), mostraram que os resultados obtidos atendem às normas técnicas nacionais e internacionais de controle de qualidade aplicadas a biocerâmicas utilizadas em Odontologia, com uma relação de metais pesados abaixo daquelas normatizadas, principalmente àquela relacionada à norma ASTM-F-1581-95b (28). Embora presentes em pequenas quantidades e não especificados pelo fabricante, estes parecem ser oriundos do cimento Portland Branco, uma vez que ocorre diminuição de seu teor à medida que hidroxiapatita e colágeno são incorporados.

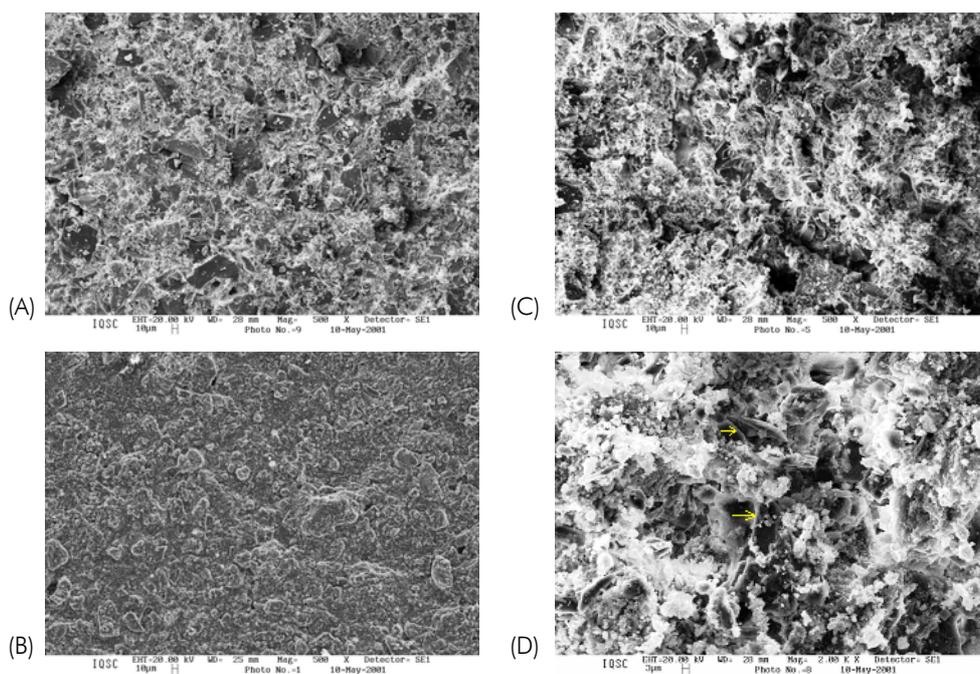


Fig. 4. Fotomicrografias das preparações: (A) Cimento : água (500x); (B) Cimento : água : hidroxiapatita (500x); (C e D) Cimento : água: hidroxiapatita : colágeno (5000 e 2000x respectivamente).

Tabela 2. Resultados das percentagens (média e desvio-padrão referentes a cinco pontos) dos elementos químicos detectados nos grupos 1, 2 e 3 por Espectroscopia de Dispersão de Raios-X.

Elementos químicos	O	Mg	Al	Si	P	Ca	Hg	Pb
Grupo 1 (%)	63,81±1,17	9,18±4,14	1,39±1,07	5,39±3,03	0,31±0,25	19,33±12,7	0,29±0,2	0,28±0,23
Grupo 2 (%)	69,24±1,43	2,39±0,26	0,75±0,13	2,47±0,04	1,49±0,06	23,39±1,58	0,12±0,0	0,13±0,04
Grupo 3 (%)	63,45±3,34	4,74±1,48	1,16±0,39	4,05±1,73	3,92±0,81	22,27±5,98	0,19±0,1	0,18±0,07

Grupo 1: Cimento Portland + Água (CPBW); Grupo 2: Cimento Portland + Hidroxiapatita + Água (CPBHAW);

Grupo 3: Cimento Portland + Hidroxiapatita + Colágeno (CPBHAC)

Expectativas do compósito obtido

Os componentes do compósito CPBHAC já são utilizados individualmente em aplicações distintas como é o caso da HA, colágeno 24h e cimento Portland Branco. Vários estudos anteriores abordaram a biocompatibilidade e a biofuncionalidade dos materiais usados e serviram como diretrizes para o presente trabalho, o qual objetivou desenvolver um novo material odontológico com características distintas.

O hidróxido de cálcio é um dos materiais que serve de parâmetro de comparação em polpa dentária e o possível mecanismo de ação do novo compósito poderia ser explicado por analogias, como, por exemplo, a presença de íons Ca^{++} e PO_4^- em saturação no sangue. Deste modo, o material que apresente um ou ambos elementos será facilmente ionizável quando em contato com a superfície da polpa. Qualquer fator que aumente a concentração de um ou de outro íon tenderá a causar precipitação de fosfato tricálcico. A provável presença de íons Ca^{++} provenientes da HA e do CPB presentes no compósito CPBHAC permitirá a precipitação de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Este depósito depende da enzima tipo fosfatase, que hidrolisa os fosfatos inorgânicos. Para que isto ocorra, é necessário que o meio apresente pH alcalino (ambiente conveniente para a ação da enzima). Esta é a provável ação do compósito obtido, que possibilita o aumento da produção de fosfatos inorgânicos pelo seu elevado pH semelhante ao do hidróxido de cálcio (pH em torno de 12). Os fosfatos inorgânicos, por sua vez, aumentam a precipitação do composto solúvel $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. O material orgânico colágeno presente neste compósito e na polpa dentária provavelmente serviria de matriz para depósito.

O pH elevado que o compósito cimento Portland:HA:colágeno produz quando exposto ao meio aquoso não parece ser um problema, pois é similar ao pH produzido pelo hidróxido de cálcio. O hidróxido de cálcio produz necrose superficial pela sua alcalinidade, estando separado da polpa normal por depósito linear de proteínato de cálcio (29). A localização e a situação do proteínato de cálcio provavelmente representa a ação em profundidade da substância, a qual finalmente reage com a proteína do tecido para formar a matriz da nova estrutura dentinária.

Quanto à hidroxiapatita, com exceção da posição do grupo OH, todas as outras posições atômicas de sua fórmula $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{H}_2\text{O}]$ são essencialmente iguais, como as da fluorapatita $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2]$, e ambas estão presentes nos dentes. Sua estrutura permite substituições catiônicas e

aniônicas isomorfas com grande facilidade (31). Por sua vez, é eficiente em reduzir não só a solubilidade dos complexos de Pb, como também sua biodisponibilidade. Sugere-se ainda que a mesma seria seis vezes mais efetiva na remoção de Chumbo do que as rochas de fosfato devido a diferenças de solubilidade (32). O Ca^{2+} pode ser substituído por metais como Zn^{2+} , Cd^{2+} , Ni, Cu^{2+} , Sr^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} , etc; os grupos fosfatos por carbonatos e os vanadatos e as hidroxilas por carbonatos, flúor e cloro (31).

Em relação à presença do colágeno, espera-se dispor de suas propriedades no tecido vivo, isto é, o potencial indutor e organizador de tecido do colágeno. Muitos derivados já são usados clinicamente na reconstrução de defeitos periodontais, implantologia e reconstrução de tecido. Os resultados têm mostrado que o colágeno aniônico, denominação dada a matrizes de colágeno com grupos carboxílicos adicionais, comporta-se com propriedades que não lhe são inerentes e que têm sido descritas na literatura para matrizes extracelulares (MECs) preparadas para enxerto tecidual. Este comportamento inclui o aumento de adesão e proliferação celular (33), ausência de resposta inflamatória (34), incorporação pelos tecidos, metaplasia óssea e, principalmente, deposição de sais de fosfato de cálcio sobre a sua estrutura tanto *in vitro* quanto *in vivo* (35).

Conclusões

A principal inovação do compósito desenvolvido é a presença de colágeno aniônico e hidroxiapatita sintetizada. O material mostrou-se estável quanto à preservação da estrutura molecular do colágeno e de seus componentes, podendo ser obtido de forma economicamente viável.

Embora estudos clínicos e considerações de limitações sobre potenciais riscos sejam necessários para definir seu uso seguro *in vivo*, o compósito desenvolvido mostra-se promissor para aplicações em Endodontia como alternativa aos materiais comerciais existentes. Os componentes do material podem influenciar positivamente na reparação tecidual da polpa dentária, mantendo a normalidade fisiológica dos tecidos remanescentes para a formação da nova matriz dentinária de uma forma “mais natural”.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos Srs. Ézer Biazin e Glauco D. Broch pela assistência técnica.

Referências

1. Browne RM, Friend LA. An investigation into irritant properties of some root filling materials. *Arch Oral Biol* 1968;13:1355-70.
2. Gartner AH, Drone SO. Advances in endodontic surgery. *Dent Clin North Am* 1992;36:357-79.
3. Menezes R, Bramante CM, Letra A, Carvalho GG, Garcia RB. Histologic evaluation of pulpotomies in dog using two types of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements as wound dressings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;98:376-9.
4. Abedi HR, Ingle JI. Mineral trioxide aggregate a review of a new cement. *J Calif Dent Assoc* 1995;23:36-9.
5. Ruiz PA. Perfurações endodônticas: revisão da literatura. *Rev Bras Patol Oral* 2003;2:45-50.
6. Weldon JK, Weldon JK Jr, Pashley DH, Loushine RJ, Weller RN, Kimbrough WF. Sealing ability of mineral trioxide aggregate and Super-EBA when used as furcation repair materials: a longitudinal study. *J Endod* 2002;467-70.
7. Holland R, Filho JA, de Souza V, Nery MJ, Bernabé PF, Junior ED. Mineral trioxide aggregate repair of lateral root perforations. *J Endod* 2001;27:281-4.
8. Estrela C, Bahman LL, Estrela CR, Silva RS, Pécora JD. Anti-microbial and chemical study of MTA, portland cement, calcium hydroxide paste, selapex and Dycal. *Braz Dent J* 2000;11:19-27.
9. Abdullah D, Ford P, Papaioannou S, Nicholson J, McDonald F. An evaluation of accelerated Portland cement as a restorative material. *Biomaterials* 2002;23:401-10.
10. Silva RM. Avaliação microscópica da resposta do complexo dentino-pulpar de dentes de cães ao agregado de trióxido mineral, cimento portland e cimento portland branco após pulpotomia [dissertação]. Bauru (SP): Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo; 2003.
11. Dammaschke T, Gerth HUV, Zuchner H, Schafer E. Chemical and physical surface and bulk material characterization of white ProRoot MTA and two Portland cements. *Dent Mater* 2005;21:731-8.
12. Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Antibacterial effects of some root end filling material. *J Endod* 1995;21:403-6.
13. Wucherpfennig AL, Green D. Mineral trioxide vs. Portland cement: two biocompatible filling materials. *J Endod* 1999;25:308.
14. Yavuzer R, Jackson IT. Hydroxyapatite cement as a filler for cavitory mandibular defects. *Eur J Plast Surg* 2001;24:85-7.
15. Tadic D, Epple M. A thorough physicochemical characterization of 14 calcium phosphate-based bone substitution materials in comparison to natural bone. *Biomaterials* 2004;25:987-94.
16. Chevally B, Herbage D. Collagen-based biomaterials as 3D scaffold for cell cultures: applications for tissue engineering and gene therapy. *Med Biol Eng Comput* 2000;38: 211-8.
17. Rodrigues CV, Serricella P, Linhares AB, Guerdes RM, Borojevic R, Rossi MA et al. Characterization of a bovine collagen-hydroxyapatite composite scaffold for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2003;24:4987-97.
18. Vidal BC. The use of a complex of collagen type I with hydroxyapatite from bone, as a bone implant substitute: the experimental approach. *Tissue Eng* 1996;2:151-60.
19. Silva CC, Thomazini D, Pinheiro AG, Aranha N, Figueiró SD, Góes JC et al. Collagen-hydroxyapatite films: piezoelectric properties. *Mater Sci Eng* 2001;886:210-8.
20. Friess W. Biomedical applications of collagen. *Int J Pharm* 2001;221:1-22.
21. Goissis G, Moriwaky CM. Processo de solubilização de tecido conjuntivo na presença de dimetilsulfóxido e concentração salina variável. P. I. 9.000.972. 02.03. Mar. 02, 1990.
22. Jarcho M, Bolen CH, Thomas MB, Bobick J, Kay JF, Doremus RH. Hydroxylapatite synthesis and characterization in dense polycrystalline form. *J Mater Sci* 1976;11:2027-35.
23. Gordon PL. The Far-infrared spectrum of collagen. *Macromol* 1974;7:954-5.
24. Benke D, Olah AE, Mohler H. Protein-chemical analysis of Bio-Oss bone substitute and evidence on its carbonate content. *Biomaterials* 2001;22:1005-12.
25. Laghios CD, Benson BW, Gutmann JL, Cutler CW. Comparative radiopacity of tetracalcium phosphate and other root-filling materials. *Int Endod J* 2000;33:311-5.
26. International Standard Organization. ISO 4049: Dentistry – polymer-based filling, restorative and luting materials. Switzerland: ISO; 2000.
27. Zhu Q, Hangland R, Safavi K, Spangberg LS. Adhesion of human osteoblasts on root-end filling materials. *J Endod* 2000;26: 404-6.
28. ASTM F-1185-88, in Annual Book of ASTM Standards, Vol. 13.01: Composition of Ceramic Hydroxyapatite for Surgical Implants. p.1-2, 1988.
29. Holland R, Souza V, Russo MC. Tratamento conservador da polpa dental. *ARS Cur Odont* 1975;2:3-17.
30. Ma PX, Zhang R. Synthetic nano-scale fibrous extracellular matrix. *J Biomed Mater Res* 1999;46:60-72.
31. Ryan JA, Zhang P. Soil Lead Remediation: Is Removal the Only Option? US EPA Risk Reduction Engineering Laboratory; 1996.
32. Mavropoulos E. A hidroxiapatita como absorvedor de metais [dissertação]. Rio de Janeiro (RJ): Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública; 1999.
33. Bet MR, Goissis G, Silva SV, Selistre-De-Araujo HS. Cell adhesion and cytotoxicity studies over polyanionic collagen surfaces with variable negative charge and wettability. *Biomaterials* 2003;24:131-7.
34. Rosa FP, Lia RCC, de Souza KO, Goissis G, Marcantonio E Jr. Tissue response to polyanionic collagen: elastin matrices implanted in rat calvaria. *Biomaterials* 2003;24:207-12.
35. Goissis G, Maginador SV, Martins VCA. Biomimetic mineralization of charged collagen. Matrices: in vitro and in vivo study. *Artif Organs* 2003;27:425-31.