



FMUC FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

**Avaliação da Alteração de Cor em dois Cimentos de Silicato de
Cálcio usados em Tratamentos Endodônticos Regenerativos**

Autor: Eder de Jesus Furtado Correia

Orientador: Prof. Doutor Paulo Jorge Rocha da Palma

Co-orientador: Prof. Doutor João Carlos Tomás Ramos

Coimbra, 2017

Avaliação da Alteração de Cor em dois Cimentos de Silicato de Cálcio usados em tratamentos Endodônticos Regenerativos

Correia, E *, Ramos, JC**, Palma, PJ***

** Aluno do 5º ano do Mestrado Integrado em Medicina Dentária da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra*

*** Professor Auxiliar do Mestrado Integrado em Medicina Dentária da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra*

**** Professor Auxiliar Convidado do Mestrado Integrado em Medicina Dentária da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra*

Dissertação submetida à Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra como requisito para a obtenção do grau de Mestrado Integrado em Medicina Dentária.

Área de Medicina Dentária
Faculdade de Medicina
Universidade de Coimbra
3000-075 Coimbra
Portugal
Correio eletrónico: edercorreiajf@gmail.com

Sumário

- I. Resumo
- II. Abstract
- III. Introdução
- IV. Materiais e Métodos
 - 1. Materiais
 - 2. Amostras
 - 3. Grupos Experimentais
 - 4. Preparação das Amostras
 - 5. Registo Fotográfico
 - 6. Análise das coordenadas L*a*b*
 - 7. Análise Estatística
- V. Resultados
 - 1. Análise Qualitativa
 - 2. Análise Quantitativa
- VI. Discussão
- VII. Conclusão
- VIII. Bibliografia
- IX. Anexos
- X. Agradecimentos
- XI. Índice

I. Resumo

Introdução: A descoloração dentária representa uma grande preocupação estética, para os pacientes e também para os médicos dentistas, principalmente quando se trata de dentes anteriores. Essa descoloração pode ter várias causas, sendo uma delas o uso de materiais endodônticos após tratamentos regenerativos. Este trabalho tem como objetivo avaliar a alteração da cor de dois cimentos à base de silicato de cálcio (CSC) (ProRoot® MTA e Biodentine™) após contato com o sangue. **Materiais/Métodos:** Foram utilizados 40 dentes artificiais, de acrílico transparente, monorradiculares e com ápice imaturo, que foram divididos em 2 grupos de acordo com os materiais utilizados. O Grupo A com ProRoot® MTA e o Grupo B com Biodentine™. Estes, por sua vez, foram sub-divididos em 2 sub-grupos (n=10), consoante o preenchimento canal: G_{A-1}: MTA / Sangue; G_{A-2}: MTA / Soro; G_{B-1}: Biodentine / Sangue e o G_{B-2}: Biodentine / Soro. Após o preenchimento canal com 7 µL de sangue/soro até cerca de 3 mm da junção amelocementária (JAC), foi colocada ao mesmo nível, uma matriz de esponja de gelatina. De seguida os CSC foram introduzidos no terço cervical, de modo a criar uma barreira cervical. O registo da cor foi efetuado em 3 tempos diferentes (T1: 3h; T2: 72h e T3: uma semana). Os dados foram analisados para a medição da alteração de cor (ΔE), usando o espaço de cores definido pela *Commission International de l'Eclairage* – (CIE L*a*b*). A análise estatística foi efetuada para as variáveis L*a*b* ao longo dos 3 períodos de tempo aplicando uma ANOVA de medidas repetidas a 2 fatores. **Resultados:** Houve alteração de cor em todos os grupos, principalmente aqueles em contato com o sangue (porção apical da barreira). O ΔE relativo intergrupos registado na porção apical da barreira foi: MTA/sangue > Biodentine/sangue > Biodentine/soro > MTA/soro. Apesar de em T1 (3h) o Biodentine/sangue (G_{B-1}) apresentar maior alteração de cor do que o subgrupo MTA/sangue (G_{A-1}), verificou-se que em T3 (uma semana) o subgrupo MTA/sangue apresentou a maior alteração de cor ao longo do tempo. Por outro lado, o subgrupo MTA/soro (G_{A-2}) foi aquele que apresentou menor alteração de cor ao longo de todo o tempo experimental (uma semana). Já o subgrupo Biodentine/soro (G_{B-2}) apresentou maior alteração de cor em T1 do que o subgrupo MTA/soro (G_{A-2}). **Conclusão:** Ambos os materiais em contato com o sangue apresentaram alterações significativas da cor ao longo do tempo, no entanto, o Biodentine apresentou menor variação da cor em comparação com o MTA. O MTA em contato com o Soro foi o que apresentou menor alteração de cor, de todos os grupos.

Palavras-Chave: descoloração dentária, MTA, Biodentine, procedimentos endodônticos regenerativos.

II. Abstract

Introduction: Dental discoloration represents a major aesthetic concern for both patients and dental professionals, especially when it affects anterior teeth. This discoloration can have several causes, with one of them being endodontic materials used after regenerative treatments. The aim of this project is to evaluate the change in colouration of two cements with a calcium-silicate base (CSC) (ProRoot® MTA e Biodentine™) after contact with blood.

Materials / Methods: Forty monoradicular transparent acrylic teeth with immature apex were used. They were divided into 2 groups according to the materials used. The A Group used ProRoot® MTA and the B Group Biodentine™. These were, in turn, divided into 2 sub-groups (n=10) by taking into consideration the canal filling: G_{A-1}: MTA / Blood; G_{A-2}: MTA / Saline; G_{B-1}: Biodentine / Blood e o G_{B-2}: Biodentine / Saline. After the filling of the canal with 7 µL of blood/saline until 3 mm to the cemento-enamel junction (CEJ), a gelatin sponge matrix was placed at the same level. The registration of the colour was made at 3 different times (T1: 3h; T2: 72h e T3: 1 week). The data were analysed in order to measure the colour alteration (ΔE), using the colour space established by the *Commission Internationale de l'Eclairage* – (CIE L*a*b*). The statistical analysis was made for the variables L*a*b* at the 3 different set times by applying a repeated ANOVA measures to 2 factors. **Results:** There was a colour change in all groups, especially in those in contact with the blood (apical portion of the barrier). The relative intergroup ΔE registered in the apical portion of the barrier was: MTA / blood > Biodentine / blood > Biodentine / saline > MTA / saline. Even though in T1 (3h) the Biodentine / blood (G_{B-1}) presented greater colour alteration than the MTA / blood subgroup (G_{A-1}), it was noted that in T3 (one week) the MTA / blood subgroup showed the greatest colour change over time. What is more, the MTA / saline subgroup (G_{A-2}) presented the least colour alteration throughout the experimental time (one week). The Biodentine / saline subgroup (G_{B-2}) had a greater colour change in T1 than the MTA / saline subgroup (G_{A-2}). **Conclusion:** Both materials, when in contact with blood, showed significant colour changes over time. However, Biodentine showed less colour variation when compared to the MTA. The MTA in contact with the Saline exhibited the smallest colour change among all the groups.

Keywords: tooth discoloration, MTA, Biodentine, regenerative endodontics treatments.

III. INTRODUÇÃO

A descoloração dentária representa uma grande preocupação estética, não só para os pacientes, como também para os médicos dentistas, principalmente quando se trata de dentes anteriores. Por conseguinte, é importante que os médicos dentistas adquiram um conhecimento mais exaustivo acerca das causas e das características clínicas da descoloração dentária, para poder selecionar o tratamento mais apropriado a cada situação. Em alguns casos, a descoloração dentária pode resultar de erros durante os procedimentos endodônticos, que podem ser atribuídos ao conhecimento inadequado do potencial de descoloração de alguns materiais endodônticos (1). Deste modo, a escolha de um material específico para o uso endodôntico, deve não só contar com aspetos biológicos e funcionais, mas também com aspetos estéticos (2). Portanto, os materiais biológicos usados em endodontia devem ser cromaticamente estáveis, apresentar propriedades óticas semelhantes à estrutura dentária, e não causar efeitos de coloração dentária ao longo do tempo (2, 3).

A necrose de um dente com ápice imaturo compromete não só a formação da dentina radicular, como a sua função (4). Deste modo, torna-se difícil a preparação, obturação canalar e restauração destes dentes (5). Assim, o tratamento de um dente com ápice imaturo após necrose pulpar é um dos grandes desafios da endodontia, pois estes dentes para além de terem pouco suporte radicular, apresentam as suas paredes radiculares finas. Este facto torna-os mais suscetíveis à fratura e à descoloração dentária (5, 6). Durante muitos anos, a apexificação usando o hidróxido de cálcio era o tratamento de eleição (5, 6). Apesar da eficácia desta técnica, ela apresentava algumas desvantagens, nomeadamente o tratamento longo (múltiplas sessões), a fragilidade da dentina radicular e o risco de fratura radicular devido ao hidróxido de cálcio (5, 6). A introdução da técnica da barreira apical com biomateriais permitiu reduzir algumas das desvantagens do hidróxido de cálcio (5, 6). Esta técnica consiste em introduzir um material, biocompatível, que tenha capacidade de selamento, potencial indutor e condutor de tecidos duros, e a capacidade de endurecer na presença de humidade no ápice da raiz, de modo a facilitar a obturação canalar e evitar o extravasamento para os tecidos periapicais (5, 6). Contudo, apesar da eficácia comprovada destas técnicas, não permitem o crescimento e maturação radicular normais e o encerramento apical interno de um dente imaturo necrosado (7).

Nos últimos anos, tem-se discutido bastante os tratamentos biológicos que visam a recuperação do tecido pulpar em dentes necróticos com ápice imaturo (4, 5) que se incluem nos denominados tratamentos endodônticos regenerativos (8). Estes procedimentos têm por base as células estaminais que sobrevivem na zona da papila apical, que resistiram nas porções apicais da cavidade pulpar à inflamação e infeção pulpar, certamente devido à sua

constituição histológica e pela proximidade do suprimento sanguíneo periodontal. O objetivo deste tratamento é preparar um ambiente apropriado dentro do canal radicular, ou seja, ausência de bactérias e de tecido de polpa necrótica, presença de uma matriz de suporte, vascularização e selamento coronário adequado que permitam o repovoamento por células estaminais, regeneração do tecido pulpar e continuação do desenvolvimento radicular (5).

A estratégia para promover um crescimento de um tecido pulpar no espaço canal é baseada em 4 princípios fundamentais (4): 1 - Desinfecção/antissepsia endodôntica eficaz; 2 - Recrutamento de células estaminais mesenquimatosas (MSCs) localizadas na papila apical; 3 - Criação de uma matriz que permita o crescimento de novos tecidos; 4 - Selamento coronário adequado para evitar a reinfeção.

Do ponto de vista de execução clínica é importante ter o canal radicular quimicamente desinfetado por irrigação copiosa com hipoclorito de sódio (5). A colocação de medicação intracanal como a pasta triantibiótica (metronidazol, ciprofloxacina e minociclina) deve ser feita dentro do canal radicular (5). Posteriormente, se não houver sinais clínicos de inflamação, a medicação intracanal é removida e é induzida hemorragia dentro do canal radicular por invasão do tecido perirradicular (5). O coágulo sanguíneo tem sido usado como matriz, apesar de apresentar algumas limitações (composição indefinida, presença de células imunes, cinética de ruptura desconhecida) e sua gênese exige algum trauma nos tecidos apicais (4). Após a formação do coágulo, o canal radicular deve ser selado cervicalmente colocando uma barreira de um cimento de silicato de cálcio sobre o coágulo sanguíneo (5).

Um dos materiais amplamente utilizados em endodontia para selamento cervical são os materiais à base de silicato de cálcio (9). Dentre eles o "*Mineral Trioxide Aggregate*" (MTA – ProRoot® MTA, Dentsply Tulsa Dental, Johnson City, TN) e o Biodentine™ (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, France) destacam-se pela sua biocompatibilidade e bioatividade (10-12). O MTA foi inicialmente comercializado na formulação cinzenta (gMTA), que depois foi reformulada numa formulação branca (wMTA). Na base desta alteração esteve em causa o grande potencial de descoloração dentária da forma cinzenta (gMTA). Por outro lado, o wMTA apresenta pequenas quantidades de ferro, alumínio e magnésio comparado com o gMTA (13). Os principais componentes do MTA são: óxido de cálcio, de sílica e de bismuto (12-14). O MTA tem sido reconhecido como um material bioativo, sendo indutor do tecido duro e biocompatível (12-14). Dadas estas propriedades, o MTA foi recomendado para inúmeras aplicações que iam desde a proteção pulpar simples, pulpotomias, formação de uma barreira apical em dentes de ápice aberto, reparação de perfurações radiculares e preenchimento do canal (12-15). Apesar das suas inúmeras vantagens e potencialidades, foram descritos alguns inconvenientes associados à utilização deste material, tais como a presença de elementos

tóxicos na sua composição, dificuldade na sua manipulação, tempo de presa longo, alto custo, ausência de um solvente específico, dificuldade de remoção após endurecer e a potencial descoloração dentária (12-14).

Entretanto surgiram no mercado outros materiais biocerâmicos, como o Biodentine™, um material à base de silicato de cálcio que apresenta propriedades físicas e químicas semelhantes às descritas para os cimentos derivados de Portland. Este material apresenta algumas propriedades mecânicas semelhantes à dentina e pode ser usado como um substituto da dentina em coroas e raízes (10, 11). O Biodentine™ está disponível na forma de pó-líquido. O pó é composto por silicato tricálcico, carbonato de cálcio, óxido de zircônio, vestígios de silicato dicálcico, óxido de cálcio e óxido de ferro. O silicato tricálcico e o silicato dicálcico são indicados como materiais de núcleo principal e secundário, respetivamente, enquanto o óxido de zircônio serve como um radiopacificador. O líquido, por outro lado, contém cloreto de cálcio como um acelerador e um polímero hidrossolúvel que serve como um agente redutor de água (10, 11). O Biodentine™ tem uma ampla gama de aplicações, incluindo reparação endodôntica (perfurações radiculares, apexificação, lesões de reabsorção e material de obturação retrógrado em cirurgia endodôntica), proteção pulpar e pode ser usado também como um material base de substituição de dentina em Dentisteria Operatória (10, 11).

Este trabalho inserido numa linha de investigação que pretende avaliar o impacto estético-dentário dos materiais endodônticos usados em tratamentos regenerativos, pretende dar a continuidade a um projeto anterior (2). Deste modo, tem como objetivo avaliar a alteração da cor de dois cimentos à base de silicato de cálcio (ProRoot® MTA e Biodentine™) aquando do contato com o sangue. A hipótese nula (H₀), sustenta que não há diferenças na alteração da cor entre os dois materiais após contato com o sangue.

IV. MATERIAIS E MÉTODOS

1. Materiais

Os Materiais usados para realizar a barreira cervical foram: o White ProRoot MTA[®] (Dentsply Tulsa Dental, Johnson City, TN, Lot:121780;Val:10/02/2018), e o Biodentine[™] (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, France, Lot:B19588;Val- 01/2019).

2. Amostras

Neste estudo experimental foram utilizados 40 dentes artificiais, usados em modelos de simulação, confeccionados em acrílico transparente (modelo 2111-102-PCL2, DRSK, Hässleholm, Sweden) monoradiculares, com cavidade de acesso preparada e ápice imaturo.

3. Grupos Experimentais

As amostras foram divididas em 2 grupos de acordo com os materiais utilizados. O **Grupo A** com ProRoot[®] MTA e o **Grupo B** com Biodentine[™]. Cada grupo por sua vez, foi sub-dividido em 2 sub-grupos (n=10), consoante o preenchimento canalар (Fig.1). G_{A-1}:MTA / Sangue; G_{A-2}: MTA / Soro; G_{B-1}: Biodentine / Sangue e o G_{B-2}: Biodentine / Soro.

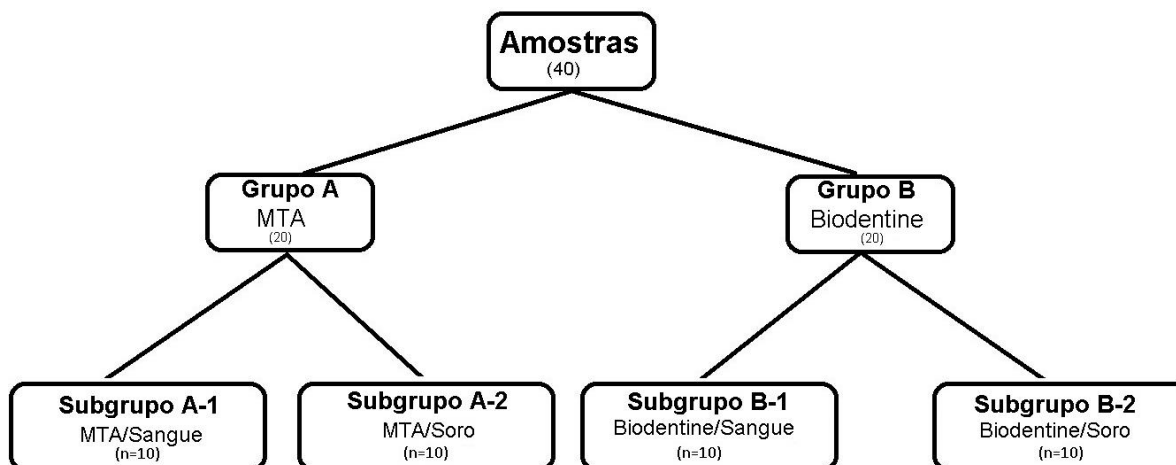


Figura 1 – Esquema dos Grupos Experimentais: G_{A-1} - MTA/Sangue, G_{A-2} - MTA/Soro, G_{B-1} - Biodentine/Sangue, G_{B-2} - Biodentine/Soro

4. Preparação das Amostras

A amostra sanguínea utilizada no presente trabalho foi colhida de um voluntário para dois tubos: um para determinação do hematócrito e o outro para a confecção das amostras. Os tubos de ensaios (2 ml) para a recolha de sangue eram estéreis e foram revestidos com o anticoagulante K₃EDTA para prevenir a coagulação total e possibilitar o procedimento experimental. A concentração do hematócrito do sangue utilizado no estudo foi de 46,4%.

A preparação das amostras iniciou-se com a colocação de cera colante na porção apical dos ápices de modo a evitar o extravasamento do conteúdo líquido colocado dentro dos canais.

No subgrupo A-1 (**MTA / Sangue**) procedeu-se ao preenchimento canalar com 7 μ L de sangue até cerca de 3 mm da junção amelocementária (JAC), com recurso a seringa e agulha de saída lateral (Kendall, Monoject™, New York, USA). De seguida foi introduzida uma matriz de esponja de gelatina (Spongostan™ Dental, MS0005, Ethicon inc, New Jersey, EUA) de dimensões 2 mm³ a cerca de 3 mm da JAC. O MTA foi preparado segundo as indicações do fabricante e introduzido no terço cervical em contato com a esponja de gelatina, com ajuda de um compactador vertical 60/120 (B&L Biotech, Bala Cynwyd, USA). de modo a criar uma barreira mais coronal, Uma bola de algodão humedecida com solução aquosa (Cloreto de Sódio 0,9% Labesfal, Santiago de Besteiros, Portugal) foi colocada na cavidade de acesso de todos os dentes (Fig.2).

No subgrupo A-2 (**MTA / Soro**) efetuou-se o mesmo procedimento do subgrupo anterior, substituindo-se o sangue pelo soro fisiológico (Fig.3).

No subgrupo B-1 (**Biodentine / Sangue**) realizou-se um procedimento similar do subgrupo A-1, mas executando a barreira cervical com Biodentine™ (Fig.2).

No subgrupo B-2 (**Biodentine / Soro**) realizou-se um procedimento similar ao subgrupo A-2, mas executando a barreira cervical com Biodentine (Fig.3).

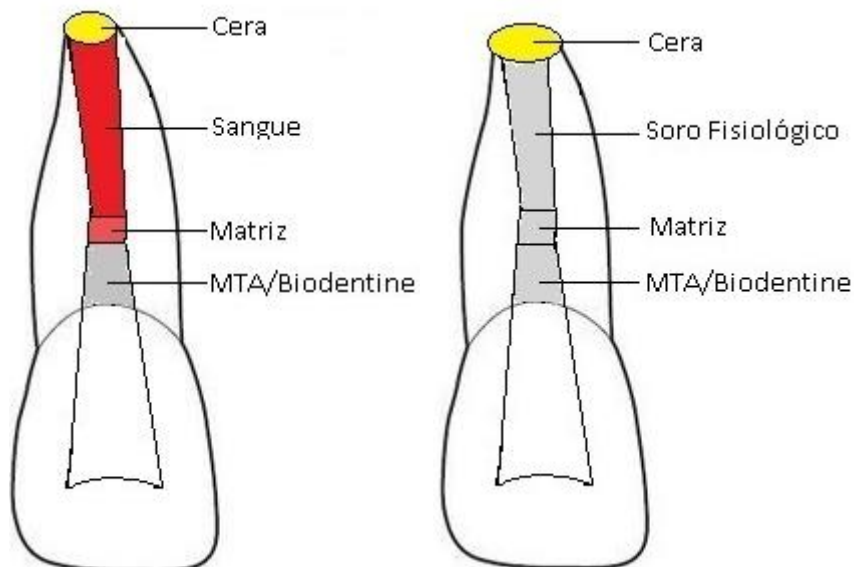


Figura 2. Grupos: G_{A-1} - MTA/Sangue, G_{B-1} - Bio/Sangue

Figura 3. Grupos: G_{A-2} - MTA/Soro, G_{B-2} - Bio/Soro

Todas as amostras foram colocadas numa caixa e armazenadas no escuro a 37°C com 100% de humidade durante o restante processo experimental.

5. Registo Fotográfico

As fotografias das amostras foram realizadas com a câmara fotográfica Canon 5DSr; Objetiva Canon MP-E 65mm Macro Lens com flash circular com filtro de polarização cruzada, uma ampliação 2x na objetiva, velocidade 1/125, abertura F16, calibração de brancos individualizada e guardadas em formato RAW.

O registo da cor foi efetuado em 3 tempos diferentes:

-T₁: 3h após preparação das amostras.

-T₂: após 72 horas e

-T₃: após 7 dias.

6. Análise das coordenadas L*a*b*

Os dados foram analisados com o *software* Adobe Photoshop CS6® para medição das coordenadas L*a*b* de cor. A cor na barreira cervical foi obtida através de 3 pontos diferentes (apical, médio e coronal) (Fig.4), centrados no canal. Os pontos marcados ocupavam uma área de 101/101 píxeis. O Software foi configurado para o *Lab color space mode* (*Image> Mode> Lab Color*), de forma a obter os valores das diferentes coordenadas.

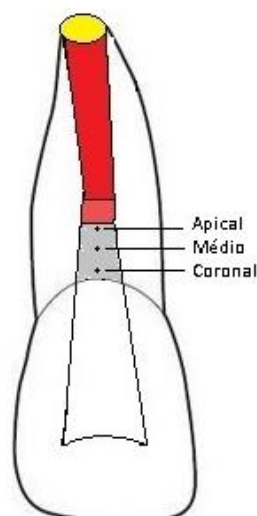


Figura 4 – Divisão do terço cervical para análise das cores

As cores foram medidas, usando o espaço de cores definido pela Commission International de l'Eclairage – (CIE L*a*b*). No sistema CIE L* a* b* de percepção do espaço da cor, o ΔL^* corresponde à diferença de luminância (de 0 – preto a 100 - branco), o Δa^* corresponde à diferença do canal vermelho (valor positivo) para o canal verde (valor negativo), e Δb^* corresponde à diferença do canal amarelo (valor positivo) para o canal azul (valor negativo).

A diferença total de cores (ΔE) é dada pela fórmula de Euclidean:

$$\Delta E_{Lab} = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2}$$

A alteração cromática perceptível aos olhos humanos está definida no valor de $\Delta E \geq 2,3$ (2).

7. Análise Estatística

A análise estatística foi efetuada recorrendo ao software IBM SPSS versão 23.0. Para a análise das variáveis L* a* e b* ao longo dos 3 períodos de tempo foi aplicada uma ANOVA de medidas repetidas a 2 fatores considerando os efeitos fixos induzidos pelo tipo de material (MTA/ Biodentine) e pelo tipo de tratamento (sangue/soro). Nesta análise foi considerada a correção de Greenhouse-Geisser em caso de violação dos pressupostos de esfericidade. Comparações entre cada grupo resultante das diferentes combinações dos fatores, material e tratamento em cada momento, foram efetuadas usando o teste de One-Way ANOVA. Nesses mesmos grupos, a avaliação da variação de cada um dos parâmetros L* a* e b* nas porções coronal, média e apical em cada momento (T1, T2 e T3) foi efetuada recorrendo ao teste de Friedman. A todas as comparações múltiplas foi aplicada a correção de Bonferroni. O nível de significância estatística foi fixado em 0,05.

V. RESULTADOS

1. Análise qualitativa

Na análise dos resultados foi possível constatar que houve alteração de cor em todos os grupos, principalmente nos que continham sangue, sendo observado neste a formação de um precipitado escuro na zona do contato direto do sangue com o MTA ou Biodentine. De referir ainda, que tal facto não se verificou para os sub-grupos do soro.

Importa ainda registar, que as alterações de cores foram mais evidentes na zona apical, desde T1 ao T3 (Tabela 1 e Fig. 1). Apesar de em T1 (3h) o Biodentine/sangue (G_{B-2}) apresentar maior alteração de cor do que o subgrupo MTA/sangue (G_{A-1}), verificou-se que em T3 (uma semana) o subgrupo MTA/sangue apresentou a maior alteração de cor ao longo do tempo (Fig.6). Por outro lado, o subgrupo MTA/soro (G_{A-2}) foi aquele que apresentou menor alteração de cor ao longo de todo o tempo experimental (uma semana) (Fig.7). Já o subgrupo Biodentine/soro (G_{B-2}) apresentou maior alteração de cor em T1 do que o subgrupo MTA/soro (G_{A-2}) (Fig. 8). (Fig.9). O Biodentine em comparação com o MTA aparentou ter maior estabilidade da cor global, ou seja, menor variação na cor quando em contacto com o sangue.

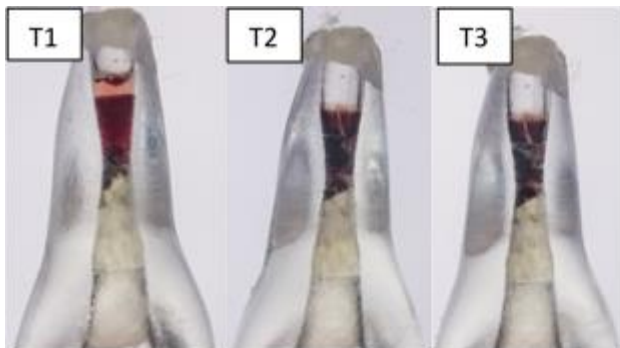


Figura 5 - Um dente do subgrupo A-1

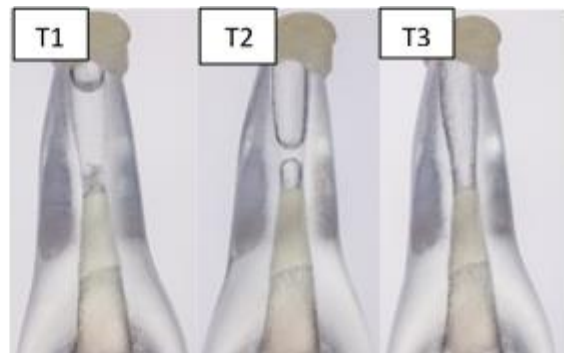


Figura 6 - Um dente do subgrupo A-2

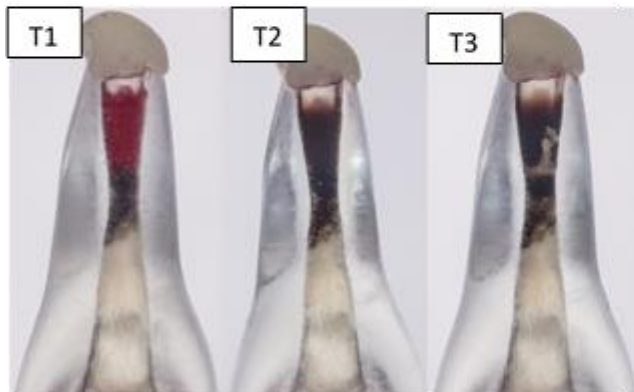


Figura 7 - Um dente do subgrupo B-1

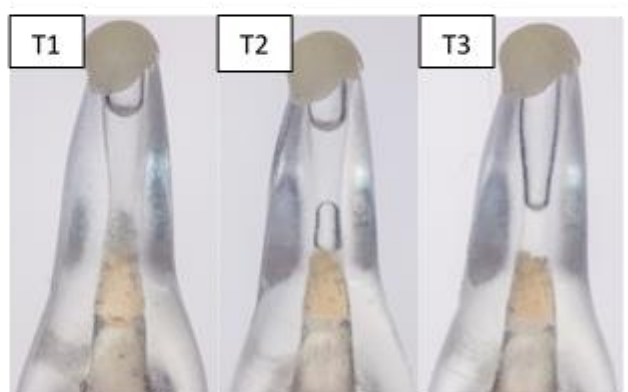


Figura 8 - Um dente do subgrupo B-2

2. Análise quantitativa:

ΔE

Zona Coronal

De T1 para T2 - Não houve diferenças entre os subgrupos na variação total de cor entre T1 e T2.

De T2 para T3 - Segundo ANOVA de Welch para amostragens que não respeitam o pressuposto de homogeneidade de variâncias, há diferenças entre os subgrupos neste intervalo $p=0.023$. Todavia, as comparações múltiplas com correção de Bonferroni não conseguem identificar entre que par de grupos elas se encontram.

De T1 para T3 - Não houve diferenças entre os 4 subgrupos de T1 para T3, $p=0.14$.

Zona Média

Não houve diferenças significativas na alteração de cores entre os subgrupos ao longo do tempo(T1-T2-T3).

Zona Apical

Não há diferenças entre os subgrupos para ΔE de T1 para T2. Pelo contrário, entre T2 e T3 já se verificaram diferenças significativas na variação de ΔE .

Importa realçar que a variação de ΔE é mais evidente quando se compara de T1-T3, como mostram a tabela e o gráfico a seguir (Tabela 1 e Gráfico 1). Em que variação de ΔE foi MTA/sangue > Biodentine/sangue > Biodentine/soro > MTA/soro.

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
MTA/Sangue	10	29.3612	14.48825	4.58159	18.9970	39.7255	11.09	56.23
MTA/Soro	10	5.1199	3.29759	1.04279	2.7609	7.4788	1.00	11.18
Biodentine/Sangue	10	21.1014	16.46987	5.20823	9.3196	32.8832	3.74	46.20
Biodentine/Soro	10	7.9059	6.17308	1.95210	3.4900	12.3219	3.00	19.13
Total	40	15.8721	14.89712	2.35544	11.1078	20.6364	1.00	56.23

Tabela 1: ΔE apical T1-T3

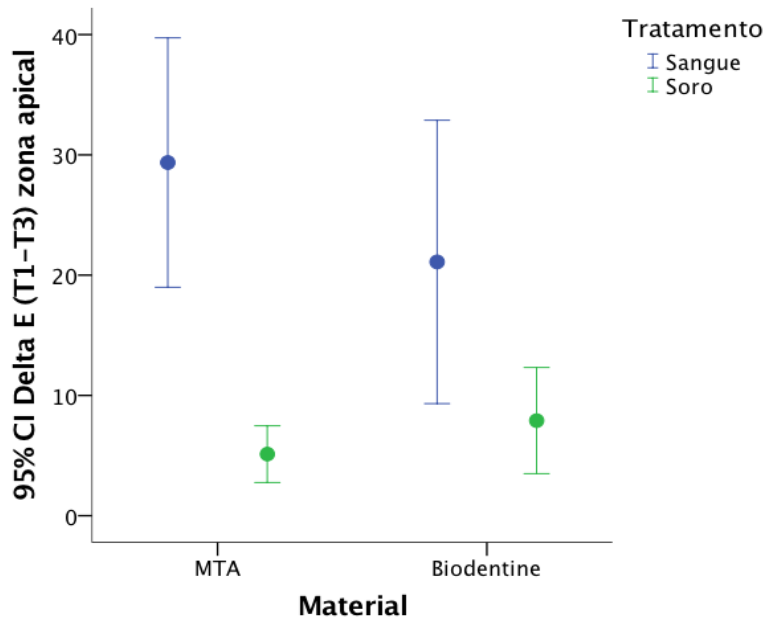


Gráfico 1: ΔE apical T1-T3

As alterações de cores foram significativas para variação do ΔE na zona apical (T1-T3).

Segue-se a descrição da alteração da cor para as coordenadas $L^*a^*b^*$ para porção apical da barreira cervical com materiais silicatos de cálcio.

L*apical

Há uma variação estatisticamente significativa ao longo do tempo $F(1.47, 51.73) = 46.50$, $p < 0.001$. Esta variação ocorre de igual forma para os dois materiais usados $F(1.47, 51.73) = 0.970$, $p = 0.360$, verifica-se o mesmo padrão de decaimento de L^* independentemente de ser MTA ou Biodentine.

Todavia, o tipo de tratamento aplicado condiciona um comportamento diferente das amostras $F(1.47, 51.73) = 19.79$, $p < 0.001$. Como pode-se verificar no *gráfico 2*, os grupos em contacto com soro têm um decaimento contínuo ao longo do tempo enquanto que os grupos com sangue têm um decaimento ligeiro de T1 para T2 e depois muito acentuado de T2 para T3.

Quando considerado apenas o biomaterial usado, é detetada uma diferença média de 3.67 (95% CI: [0.61 - 6.72]) entre MTA e Biodentine ($F(1, 36) = 5.91$, $p = 0.02$) favorecendo o primeiro.

As comparações par-a-par de cada combinação de biomaterial e tratamento em cada momento estão na *tabela 2*. Há diferenças entre os 4 grupos em todos os momentos (T1, T2, T3), com $p < 0.001$.

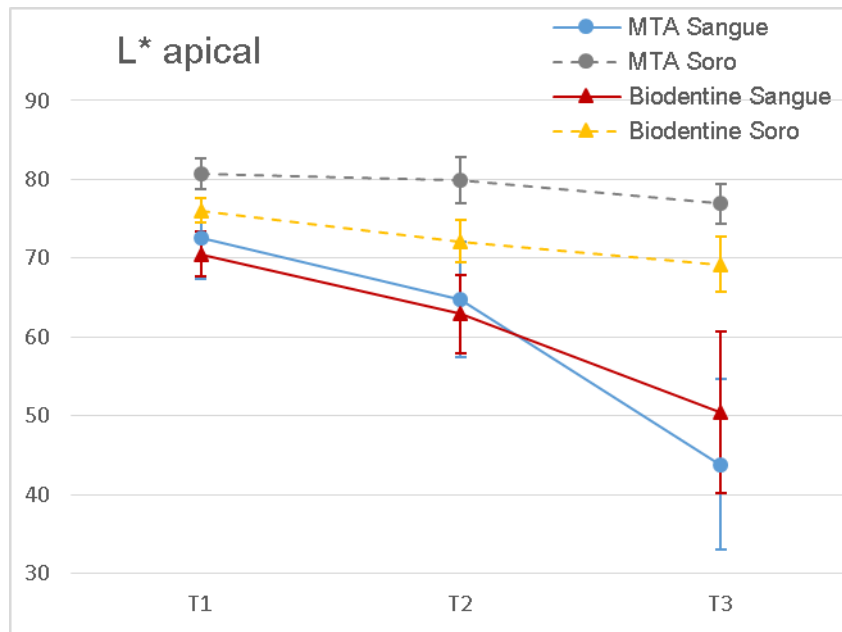


Gráfico 2: L^* apical T1-T3

a* apical

Há uma variação estatisticamente significativa ao longo do tempo $F(1.72,61.87)=5.83$, $p=0.007$.

Esta variação é diferente consoante o material usado $F(1.72, 61.87) = 3.59$, $p=0.04$ e consoante o tratamento a que está sujeita a amostra com sangue ou soro $F(1.72, 61.87) = 3.45$, $p=0.045$. Como pode-se verificar no *gráfico 3* estas diferenças no comportamento são, todavia, residuais.

Quando considerado apenas o biomaterial usado, é detectada uma diferença média de 3.95 (95% CI: [3.02 - 4.88]) entre MTA e Biodentine ($F(1, 36) = 72.94$, $p<0.001$), estando os valores mais elevados associados ao Biodentine.

As comparações par-a-par de cada combinação de biomaterial e tratamento em cada momento estão na *tabela 3*. Há diferenças entre os 4 grupos em todos os momentos (T1, T2, T3), com $p < 0.001$.

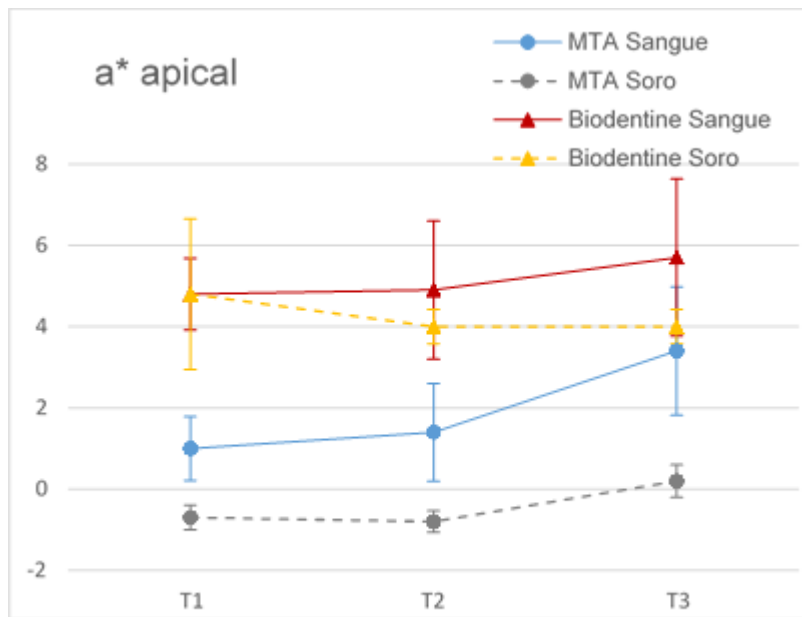


Gráfico 3: a^* apical T1-T3

b* apical

Não há variação significativa ao longo do tempo $F(1.68, 60.49)=2.89$, $p=0.072$, independentemente do material ou tratamento.

Quando considerado apenas o biomaterial usado, é detetada uma diferença média de 3.60 (95% CI: [2.16 - 5.04]) entre MTA e Biodentine ($F(1, 36) = 25.55$, $p<0.001$), estando os valores mais elevados associados ao Biodentine, como pode-se verificar no *gráfico 4*. As comparações par-a-par de cada combinação de biomaterial e tratamento em cada momento estão na tabela 4. Há diferenças entre os 4 grupos em todos os momentos, com $p<0.001$, $p<0.001$ e $p=0.005$ para T1, T2 e T3 respetivamente.

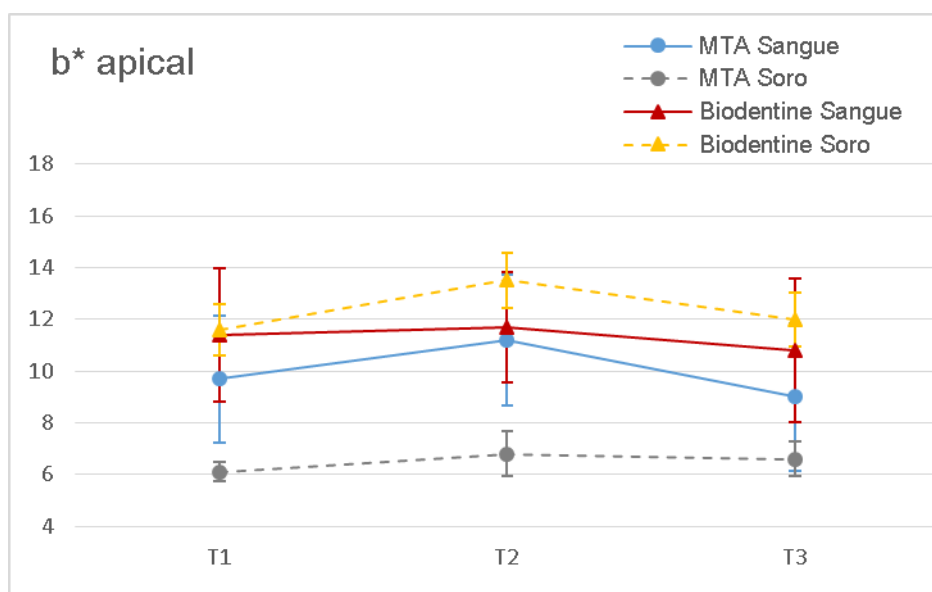


Gráfico 4: b^* apical T1-T3

Com base nos resultados do presente estudo, pode-se rejeitar a hipótese nula, ou seja, existem diferenças significativas na variação cromática entre o ProRoot® MTA e o Biodentine™ quando em contato com sangue.

VI. Discussão

Os resultados deste estudo mostraram que ao fim de uma semana de avaliação, o grupo MTA-Sangue apresentou maior alteração da cor em comparação com o grupo Biodentine/sangue, tanto em apical como em coronal. Este resultado vai de encontro aos resultados de Keskin et al e Shokouhinejad *et al*, onde o Biodentine apresentou menor alteração de cor (16, 17). Para Keskin et al, o facto do Biodentine apresentar menor variação de coloração em comparação com o MTA, pode ser devido ao seu tempo de presa mais reduzido(16). Quando comparado com cimento MTA, o Biodentine tem um tempo de presa significativamente mais curto e é mais fácil de ser manipulado(18). Também se pode especular se um menor tempo de presa limita a necessidade de hidratação e por conseguinte a consequente difusão dos eritrócitos a partir do canal para o interior do material. Este raciocínio pode também aplicar-se para explicar que a porção apical da barreira seja a que sofra maior alteração de cor em ambos os materiais. Por conseguinte, parece desejável que durante a aplicação e reação de presa destes materiais se conseguisse limitar o contacto e mistura com sangue fluido presente no interior do canal. Em algumas amostras houve a formação de um precipitado escuro após um contato direto do sangue com o MTA e o Biodentine. Tal não ocorreu nos sub-grupos com soro. Um motivo para este fato, pode ser devido à formação de alguma reação de oxidação do ferro (Fe^{2+} em Fe^{3+}) presente no sangue com o meio envolvente (16, 19). A mistura de MTA com o sangue resulta na falta de formação do hidróxido de cálcio cristalino no estágio inicial do processo de hidratação (20). A contaminação sanguínea tem um efeito prejudicial na microdureza superficial do MTA a curto e a longo prazo(21, 22).

Do ponto de vista geográfico, de modo a avaliar e caracterizar melhor a coloração ao longo do tempo, optou-se por dividir a barreira cervical em 3 zonas de medida e de registo (coronal, média e apical). Contudo, no que concerne à avaliação longitudinal das variações cromáticas é aconselhável prosseguir por tempos mais extensos.

Na análise das coordenadas L^* e a^* , ambos os grupos MTA/sangue e Biodentine/sangue apresentaram alterações da cor ao longo do tempo nas 3 porções da amostra. O grupo MTA/soro não apresentou diferenças significativas ao longo do tempo em qualquer das zonas da amostra. Já o grupo Biodentine/soro apresentou diferenças significativas de T1 para T2, mas não de T2 para T3. O grupo MTA/soro apresentou menor alteração de cor do que o grupo Biodentine/soro. Este fato pode ser devido à composição do próprio pó do Biodentine e ao facto de o soro poder ser usado na própria mistura e reação de presa do MTA, o que não acontece com o biodentine que possui um líquido com características próprias.

Neste estudo foi utilizado um modelo de dente em acrílico tentando-se recriar um modelo experimental que mimetize em parte a mesma técnica utilizada nos tratamentos endodônticos regenerativos mas eliminando simultaneamente factores de confusão, como a própria variabilidade individual dos substratos dentários. Deste modo, pretendeu-se avaliar apenas a interação do material em contato com o sangue, excluindo assim, outros fatores que podem influenciar a alteração da cor, como por exemplo, a presença de túbulos dentinários, restos tecidulares, a própria cor e opacidade dos dentes naturais. Os eritrócitos são conhecidos por serem responsáveis por coloração intrínseca e têm a capacidade de penetrar nos túbulos dentinários e causar descoloração dentária (16, 23, 24). Os eritrócitos responsáveis pela descoloração são encontrados dentro dos túbulos dentinários e não na dentina intertubular(23). Paralelamente, a hemólise dos eritrócitos liberta a hemoglobina que mais tarde se combina com o sulfureto de hidrogénio, produzido pela necrose do tecido pulpar, para formar sulfureto de ferro de cor preta, (23, 25). Por outro lado, os tecidos pulpares vitais contêm eritrócitos, que podem interagir com os biomateriais usados nos tratamentos pulpares(16). Shokouhinejad *et al* (17) sustentam que materiais à base de silicato de cálcio devem ser usados somente após a obtenção de hemostase completa por forma a diminuir a descoloração, pois a porosidade nestes materiais pode reter os componentes do sangue e causar a sua descoloração (17).

A presença de sangue dentro da cavidade adjacente aos materiais exacerba a descoloração dentária induzida por materiais de proteção pulpar à base de MTA(26). Felman *et al.* (27) mostraram num estudo *ex-vivo* que dentes com MTA em contato com o sangue apresentam menor alteração da cor do que dentes apenas preenchidos por sangue, indicando assim que o MTA limita a difusão de eritrócitos do canal para os túbulos dentinários. Por outro lado Ramos *et al* (2) também verificaram num estudo *in vitro* que a presença de sangue induzia maior descoloração dentária que o MTA isoladamente. Segundo os mesmos autores os cimentos à base de silicato de cálcio sofrem descoloração após um ano e poderão comprometer performance a clínica na estética dentária. O MTA induz maior descoloração dentária do que o Biodentine (2, 28). Uma das razões apontadas para este fato, é a presença de óxido de bismuto na composição do MTA(3, 29). O óxido de bismuto dissocia-se em cristais de cor escura de bismuto metálico e oxigénio quando exposto à luz visível e ultravioleta (27). O Biodentine por sua vez apresenta na sua composição o óxido de zircónio que induz menor alteração da cor. Existem outras hipóteses para explicar o mecanismo de alteração da cor para além da presença de óxido de bismuto como, a influência da luz e do oxigénio, a interação do óxido de bismuto com o hipoclorito e a oxidação do remanescente do ferro dentro do MTA. Vallés *et al* (30) afirmam que os materiais à base de silicato de cálcio apresentam uma coloração escura nas condições de anaerobiose, irradiação fotopolimerizada ou lâmpada

fluorescente e a presença de óxido de bismuto na sua constituição (30). Outra razão é o conteúdo de ferro na fase de aluminoferrite de cálcio no MTA ser sugerido como responsável pela descoloração que o contato com sangue parece exacerbar (16, 27). No entanto, no presente estudo, a concentração de ferro do próprio MTA, não parece influenciar, pois o MTA/soro foi o que teve menos alteração de cor.

De modo a estabilizar o coágulo, foi utilizada esponja de gelatina que possui propriedades hemostáticas. Além disso, nos procedimentos endodônticos regenerativos a sua utilização em contato com o sangue pode funcionar como uma matriz para as células estaminais presentes no coágulo sanguíneo (31, 32). Por outro lado, sua utilização possibilitou dar certo suporte/apoio de sustentação mecânica na colocação dos materiais da barreira cervical, evitando que estes colapsem para o interior do canal radicular, o que certamente aumentaria a coloração do material. Essa barreira cervical de MTA ou Biodentine, tem um papel crucial nos procedimentos endodônticos regenerativos na hermeticidade do espaço pulpar e na prevenção da microinfiltração coronária (9) .

Mais estudos deste gênero são necessários para compreender melhor o mecanismo da alteração da cor destes biomateriais em contato com o sangue. Em aberto ficam algumas questões que poderão e deverão ser abordadas em futuros trabalhos de investigação, nomeadamente: natureza do precipitado escuro que se forma na superfície dos biomateriais aquando do contato direto com o sangue; otimização do material de sustentação intermédio entre o sangue e o cimento de silicato de cálcio; materiais de base com capacidade de fotopolimerização; indução da coagulação superficial do sangue canalar.

VII. Conclusão

Ambos os materiais avaliados neste trabalho, ProRoot® MTA e Biodentine™, apresentaram alterações significativas da cor quando em contacto com o sangue em condições de simulação de procedimentos endodônticos regenerativos. No entanto, o Biodentine™ apresentou menor alteração da cor em comparação com o MTA.

O MTA em contato com o soro foi o que apresentou menor alteração de cor dentre todos os grupos avaliados.

VIII. Bibliografia

1. Ahmed HM, Abbott PV. Discolouration potential of endodontic procedures and materials: a review. *IEJ*. 2012;45(10):883-97.
2. Ramos JC, Palma PJ, Nascimento R, Caramelo F, Messias A, Vinagre A, et al. 1-year in vitro evaluation of tooth discoloration induced by 2 calcium silicate-based cements. *J Endod*. 2016;42(9):1403-7.
3. Krastl G, Allgayer N, Lenherr P, Filippi A, Taneja P, Weiger R. Tooth discoloration induced by endodontic materials: a literature review. *Dent Traumatol*. 2013;29(1):2-7.
4. Palma PJ, Ramos JC, Martins JB, Diogenes A, Figueiredo MH, Ferreira P, et al. Histologic evaluation of regenerative endodontic procedures with the use of chitosan scaffolds in immature dog teeth with apical periodontitis. *J Endod*. 2017.
5. Nosrat A, Homayounfar N, Oloomi K. Drawbacks and unfavorable outcomes of regenerative endodontic treatments of necrotic immature teeth: a literature review and report of a case. *J Endod*. 2012;38(10):1428-34.
6. Asgary S, Fazlyab M, Nosrat A. Regenerative endodontic treatment versus apical plug in immature teeth: three-year follow-up. *JCPD*. 2016;40(5):356-60.
7. Palma PJ, Ramos JC, Martins JB, Viegas C, Santos JM. Procedimentos endodônticos regenerativos com matrizes em dentes permanentes imaturos com periodontite apical. *Revista da Ordem dos Médicos Dentistas*. 2017:41-6.
8. Diogenes A, Ruparel NB, Shiloah Y, Hargreaves KM. Regenerative endodontics: a way forward. *JADA*. 2016;147(5):372-80.
9. Mah T, Basrani B, Santos JM, Pascon EA, Tjaderhane L, Yared G, et al. Periapical inflammation affecting coronally-inoculated dog teeth with root fillings augmented by white MTA orifice plugs. *J Endod*. 2003;29(7):442-6.
10. Malkondu O, Karapinar Kazandag M, Kazazoglu E. A review on biodentine, a contemporary dentine replacement and repair material. *BioMed research international*. 2014;2014:160951.
11. Rajasekharan S, Martens LC, Cauwels RG, Verbeeck RM. Biodentine material characteristics and clinical applications: a review of the literature. *European archives of paediatric dentistry* 2014;15(3):147-58.
12. Torabinejad M, Parirokh M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--part II: leakage and biocompatibility investigations. *J Endod*. 2010;36(2):190-202.
13. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part I: chemical, physical, and antibacterial properties. *J Endod*. 2010;36(1):16-27.
14. 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):400-13.
15. Bakland LK, Andreasen JO. Will mineral trioxide aggregate replace calcium hydroxide in treating pulpal and periodontal healing complications subsequent to dental trauma? A review. *Dent Traumatol*. 2012;28(1):25-32.
16. Keskin C, Sariyilmaz E. Tooth discoloration induced by calcium silicate-based materials in contact with blood. *International Journal of Clinical Dentistry*. 2016;9(1):47-51.
17. Shokouhinejad N, Nekoofar MH, Pirmoazen S, Shamshiri AR, Dummer PM. Evaluation and comparison of occurrence of tooth discoloration after the application of various calcium silicate-based cements: An Ex Vivo Study. *J Endod*. 2016;42(1):140-4.
18. Butt N, Talwar S, Chaudhry S, Nawal RR, Yadav S, Bali A. Comparison of physical and mechanical properties of mineral trioxide aggregate and Biodentine. *Indian journal of dental research*. 2014;25(6):692-7.
19. Grotto HZ. Fisiologia e metabolismo do ferro. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2010.
20. Nekoofar MH, Davies TE, Stone D, Basturk FB, Dummer PM. Microstructure and chemical analysis of blood-contaminated mineral trioxide aggregate. *IEJ*. 2011;44(11):1011-8.

21. Nekoofar MH, Oloomi K, Sheykhrezae MS, Tabor R, Stone DF, Dummer PM. An evaluation of the effect of blood and human serum on the surface microhardness and surface microstructure of mineral trioxide aggregate. *IEJ*. 2010;43(10):849-58.
22. Song M, Yue W, Kim S, Kim W, Kim Y, Kim JW, et al. The effect of human blood on the setting and surface micro-hardness of calcium silicate cements. *Clinical oral investigations*. 2016;20(8):1997-2005.
23. Marin PD, Bartold PM, Heithersay GS. Tooth discoloration by blood: an in vitro histochemical study. *Endodontics & dental traumatology*. 1997;13(3):132-8.
24. Freccia WF, Peters DD. A technique for staining extracted teeth: a research and teaching aid for bleaching. *J Endod*. 1982;8(2):67-9.
25. Watts A, Addy M. Tooth discolouration and staining: a review of the literature. *British dental journal*. 2001;190(6):309-16.
26. Yun DA, Park SJ, Lee SR, Min KS. Tooth discoloration induced by calcium-silicate-based pulp-capping materials. *Eur J Dent*. 2015;9(2):165-70.
27. Felman D, Parashos P. Coronal tooth discoloration and white mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 2013;39(4):484-7.
28. Valles M, Roig M, Duran-Sindreu F, Martinez S, Mercade M. Color stability of teeth restored with biodentine: a 6-month in vitro study. *J Endod*. 2015;41(7):1157-60.
29. Steffen R, van Waes H. Understanding mineral trioxide aggregate/portland-cement: a review of literature and background factors. *European archives of paediatric dentistry* 2009;10(2):93-7.
30. Valles M, Mercade M, Duran-Sindreu F, Bourdelande JL, Roig M. Influence of light and oxygen on the color stability of five calcium silicate-based materials. *J Endod*. 2013;39(4):525-8.
31. Londero Cde L, Pagliarin CM, Felipe MC, Felipe WT, Danesi CC, Barletta FB. Histologic analysis of the influence of a gelatin-based scaffold in the repair of immature dog teeth subjected to regenerative endodontic treatment. *J Endod*. 2015;41(10):1619-25.
32. Hoque ME, Nuge T, Yeow TK, Nordin N, Prasad R. Gelatin based scaffolds for tissue engineering-a review. *Polymers Research Journal*. 2015;9(1):15.

IX. Anexos

Dependent Variable	(I) VAR00001	(J) VAR00001	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
L_T1_apical	MTA Sangue	MTA Soro	-8.200*	2.247	.005	-14.47	-1.93
		BIO Sangue	2.000	2.247	1.000	-4.27	8.27
		Bio Soro	-3.500	2.247	.769	-9.77	2.77
	MTA Soro	MTA Sangue	8.200*	2.247	.005	1.93	14.47
		BIO Sangue	10.200*	2.247	.000	3.93	16.47
		Bio Soro	4.700	2.247	.262	-1.57	10.97
	BIO Sangue	MTA Sangue	-2.000	2.247	1.000	-8.27	4.27
		MTA Soro	-10.200*	2.247	.000	-16.47	-3.93
		Bio Soro	-5.500	2.247	.116	-11.77	.77
	Bio Soro	MTA Sangue	3.500	2.247	.769	-2.77	9.77
		MTA Soro	-4.700	2.247	.262	-10.97	1.57
		BIO Sangue	5.500	2.247	.116	-.77	11.77
L_T2_apical	MTA Sangue	MTA Soro	-15.100*	3.431	.001	-24.68	-5.52
		BIO Sangue	1.900	3.431	1.000	-7.68	11.48
		Bio Soro	-7.300	3.431	.242	-16.88	2.28
	MTA Soro	MTA Sangue	15.100*	3.431	.001	5.52	24.68
		BIO Sangue	17.000*	3.431	.000	7.42	26.58
		Bio Soro	7.800	3.431	.174	-1.78	17.38
	BIO Sangue	MTA Sangue	-1.900	3.431	1.000	-11.48	7.68
		MTA Soro	-17.000*	3.431	.000	-26.58	-7.42
		Bio Soro	-9.200	3.431	.066	-18.78	.38
	Bio Soro	MTA Sangue	7.300	3.431	.242	-2.28	16.88
		MTA Soro	-7.800	3.431	.174	-17.38	1.78
		BIO Sangue	9.200	3.431	.066	-.38	18.78
L_T3_apical	MTA Sangue	MTA Soro	-33.100*	5.482	.000	-48.40	-17.80
		BIO Sangue	-6.600	5.482	1.000	-21.90	8.70
		Bio Soro	-25.400*	5.482	.000	-40.70	-10.10
	MTA Soro	MTA Sangue	33.100*	5.482	.000	17.80	48.40
		BIO Sangue	26.500*	5.482	.000	11.20	41.80
		Bio Soro	7.700	5.482	1.000	-7.60	23.00
	BIO Sangue	MTA Sangue	6.600	5.482	1.000	-8.70	21.90
		MTA Soro	-26.500*	5.482	.000	-41.80	-11.20
		Bio Soro	-18.800*	5.482	.009	-34.10	-3.50
	Bio Soro	MTA Sangue	25.400*	5.482	.000	10.10	40.70
		MTA Soro	-7.700	5.482	1.000	-23.00	7.60
		BIO Sangue	18.800*	5.482	.009	3.50	34.10

* The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabela 2: Multiple Comparisons Bonferroni

Dependent Variable	(I) VAR00001	(J) VAR00001	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
a_T1_apical	MTA Sangue	MTA Soro	1.700	.786	.224	-.50	3.90
		BIO Sangue	-3.800*	.786	.000	-6.00	-1.60
		Bio Soro	-3.800*	.786	.000	-6.00	-1.60
	MTA Soro	MTA Sangue	-1.700	.786	.224	-3.90	.50
		BIO Sangue	-5.500*	.786	.000	-7.70	-3.30
		Bio Soro	-5.500*	.786	.000	-7.70	-3.30
	BIO Sangue	MTA Sangue	3.800*	.786	.000	1.60	6.00
		MTA Soro	5.500*	.786	.000	3.30	7.70
		Bio Soro	.000	.786	1.000	-2.20	2.20
	Bio Soro	MTA Sangue	3.800*	.786	.000	1.60	6.00
		MTA Soro	5.500*	.786	.000	3.30	7.70
		BIO Sangue	.000	.786	1.000	-2.20	2.20
a_T2_apical	MTA Sangue	MTA Soro	2.200*	.756	.037	.09	4.31
		BIO Sangue	-3.500*	.756	.000	-5.61	-1.39
		Bio Soro	-2.600*	.756	.009	-4.71	-.49
	MTA Soro	MTA Sangue	-2.200*	.756	.037	-4.31	-.09
		BIO Sangue	-5.700*	.756	.000	-7.81	-3.59
		Bio Soro	-4.800*	.756	.000	-6.91	-2.69
	BIO Sangue	MTA Sangue	3.500*	.756	.000	1.39	5.61
		MTA Soro	5.700*	.756	.000	3.59	7.81
		Bio Soro	.900	.756	1.000	-1.21	3.01
	Bio Soro	MTA Sangue	2.600*	.756	.009	.49	4.71
		MTA Soro	4.800*	.756	.000	2.69	6.91
		BIO Sangue	-.900	.756	1.000	-3.01	1.21
a_T3_apical	MTA Sangue	MTA Soro	3.200*	.907	.007	.67	5.73
		BIO Sangue	-2.300	.907	.094	-4.83	.23
		Bio Soro	-.600	.907	1.000	-3.13	1.93
	MTA Soro	MTA Sangue	-3.200*	.907	.007	-5.73	-.67
		BIO Sangue	-5.500*	.907	.000	-8.03	-2.97
		Bio Soro	-3.800*	.907	.001	-6.33	-1.27
	BIO Sangue	MTA Sangue	2.300	.907	.094	-.23	4.83
		MTA Soro	5.500*	.907	.000	2.97	8.03
		Bio Soro	1.700	.907	.414	-.83	4.23
	Bio Soro	MTA Sangue	.600	.907	1.000	-1.93	3.13
		MTA Soro	3.800*	.907	.001	1.27	6.33
		BIO Sangue	-1.700	.907	.414	-4.23	.83

* The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabela 3: Multiple Comparisons Bonferroni

Dependent Variable	(I) VAR00001	(J) VAR00001	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
b_T1_apical	MTA Sangue	MTA Soro	3.6000	1.3119	.056	-.063	7.263
		BIO Sangue	-1.7000	1.3119	1.000	-5.363	1.963
		Bio Soro	-1.9000	1.3119	.937	-5.563	1.763
	MTA Soro	MTA Sangue	-3.6000	1.3119	.056	-7.263	.063
		BIO Sangue	-5.3000*	1.3119	.002	-8.963	-1.637
		Bio Soro	-5.5000*	1.3119	.001	-9.163	-1.837
	BIO Sangue	MTA Sangue	1.7000	1.3119	1.000	-1.963	5.363
		MTA Soro	5.3000*	1.3119	.002	1.637	8.963
		Bio Soro	-.2000	1.3119	1.000	-3.863	3.463
	Bio Soro	MTA Sangue	1.9000	1.3119	.937	-1.763	5.563
		MTA Soro	5.5000*	1.3119	.001	1.837	9.163
		BIO Sangue	.2000	1.3119	1.000	-3.463	3.863
b_T2_apical	MTA Sangue	MTA Soro	4.4000*	1.2732	.009	.845	7.955
		BIO Sangue	-.5000	1.2732	1.000	-4.055	3.055
		Bio Soro	-2.3000	1.2732	.475	-5.855	1.255
	MTA Soro	MTA Sangue	-4.4000*	1.2732	.009	-7.955	-.845
		BIO Sangue	-4.9000*	1.2732	.003	-8.455	-1.345
		Bio Soro	-6.7000*	1.2732	.000	-10.255	-3.145
	BIO Sangue	MTA Sangue	.5000	1.2732	1.000	-3.055	4.055
		MTA Soro	4.9000*	1.2732	.003	1.345	8.455
		Bio Soro	-1.8000	1.2732	.996	-5.355	1.755
	Bio Soro	MTA Sangue	2.3000	1.2732	.475	-1.255	5.855
		MTA Soro	6.7000*	1.2732	.000	3.145	10.255
		BIO Sangue	1.8000	1.2732	.996	-1.755	5.355
b_T3_apical	MTA Sangue	MTA Soro	2.4000	1.4682	.665	-1.699	6.499
		BIO Sangue	-1.8000	1.4682	1.000	-5.899	2.299
		Bio Soro	-3.0000	1.4682	.290	-7.099	1.099
	MTA Soro	MTA Sangue	-2.4000	1.4682	.665	-6.499	1.699
		BIO Sangue	-4.2000*	1.4682	.042	-8.299	-.101
		Bio Soro	-5.4000*	1.4682	.005	-9.499	-1.301
	BIO Sangue	MTA Sangue	1.8000	1.4682	1.000	-2.299	5.899
		MTA Soro	4.2000*	1.4682	.042	.101	8.299
		Bio Soro	-1.2000	1.4682	1.000	-5.299	2.899
	Bio Soro	MTA Sangue	3.0000	1.4682	.290	-1.099	7.099
		MTA Soro	5.4000*	1.4682	.005	1.301	9.499
		BIO Sangue	1.2000	1.4682	1.000	-2.899	5.299

* The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabela 4: Multiple Comparisons Bonferroni

X. Agradecimentos

O presente trabalho foi o resultado de muita ansiedade, esforço e dedicação. Para a sua elaboração, precisei contar com o apoio de inúmeras pessoas e hoje sinto-me grato em deixar os meus sinceros agradecimentos a todos que de certa forma, diretamente ou indiretamente contribuíram para que esta investigação se concretizasse.

Primeiramente, agradeço à Deus pela força, inspiração e motivação que sempre me concedeu principalmente nos momentos mais atribulados.

Ao meu Orientador, Prof. Doutor Paulo Palma, pela disponibilidade, apoio, correções, ensinamentos e paciência. Enfim, muito obrigada pelas suas sábias orientações.

Ao Prof. Doutor João Carlos Ramos, meu Co-orientador, pelas sugestões, apoio e orientações durante a elaboração deste trabalho.

Ao Mestre Rui Falacho que disponibilizou seu tempo para fotografar os materiais em estudos.

À Mestre Ana Messias e ao Prof. Doutor Francisco Caramelo pelos esclarecimentos de dúvidas e apoio com os resultados estatísticos.

À empresa CADIMADENTE que nos facultou os materiais (dentes) para a realização do estudo. À técnica do laboratório de tecidos duros a D. Cláudia Brites pelo apoio laboratorial e à Dr^a. Catarina Chaves na análise da amostra (sangue) para o presente estudo.

Ao meu binómio e amigo Henrique Aidos que se voluntariou para a doação de sangue que foi usado no presente trabalho.

Também agradeço aos meus pais, meus alicerces, suporte, a quem devo tudo o que sou e a minha família pelo apoio, pelo carinho, pelo estímulo e pela motivação.

E por fim aos meus amigos, colegas de curso (principalmente à Ana Ramos, Leonor Pimentel e Liliane Fernandes), e a todos que me deram força e incentivo e que sempre criaram boas expectativas de mim em tudo o que eu faço.

Um bem-haja a todos!

XI. Índice

Sumário	iv
I. Resumo	v
II. Abstract	vi
III. Introdução	7
IV. Materiais e Métodos	10
1. Materiais	10
2. Amostras	10
3. Grupos Experimentais	10
4. Preparação das Amostras	10
5. Registo Fotográfico	12
6. Análise das coordenadas L*a*b*	12
7. Análise Estatística	13
V. Resultados	14
1. Análise Qualitativa	14
2. Análise Quantitativa	15
VI. Discussão	20
VII. Conclusão	23
VIII. Bibliografia	24
IX. Anexos	26
X. Agradecimentos	29
XI. Índice	30