

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ



Centro de Ciências Biológicas e da Saúde Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Odontologia

Lúcio Paulo de Godoy Chicarelli

Efeito do silicato tricálcico no capeamento pulpar direto: estudo experimental em ratos

CASCAVEL-PR 2015



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ



Centro de Ciências Biológicas e da Saúde Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Odontologia

Lúcio Paulo de Godoy Chicarelli

Efeito do silicato tricálcico no capeamento pulpar direto: estudo experimental em ratos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação *Stricto Sensu* em Odontologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Mário Alexandre

Coelho Sinhoreti

Coorientador: Prof. Dr. Márcio J.

Mendonça

CASCAVEL-PR 2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

C46e

Chicarelli, Lúcio Paulo de Godoy

Efeito do silicato tricálcico no capeamento pulpar direto: estudo experimental em ratos. /Lúcio Paulo de Godoy Chicarelli. Cascavel, PR: UNIOESTE, 2015.

35 p.

Orientador: Prof. Dr. Mário Alexandre Coelho Sinhoreti Coorientador: Márcio J. Mendonça

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, 2015.

Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Odontologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.

1. Capeamento pulpar direto. 2. Ponte de dentina. 3. MTA. 4. Biodentine®. I.Sinhoreti, Mário Alexandre Coelho. II. Mendonça, Márcio J. III.Universidade Estadual do Oeste do Paraná. IV. Título.

CDD 21.ed. 617.695 CIP-NBR 12899

Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Bejio CRB-9ª/965



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Odontologia



TERMO DE APROVAÇÃO

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Dissertação de Mestrado, em sessão pública, realizada em 19 de fevereiro de 2015, considerou o candidato Lucio Paulo de Godoy Chicarelli aprovado.

Prof. Dr. Marcio José Mendonça

deads itengen

Prof. Dr. Carlos Roberto Berger

Elaine M. Port Amoun

Prof.^a Dr.^a Elaine Manoela Porto Amorim

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à Deus, minha família: Vida, Heitor e Alef que sempre me incentivaram para a conclusão desta etapa.

AGRADECIMENTOS

Sempre a Deus, por guiar nossas Vidas! Fortalecer nosso espírito e nutrir nossa alma.

Primeiramente a minha Vida, meu amor TE AMO, companheira e esposa que me conduziu ao Mestrado, agora é a sua vez. Sempre me incentivando a uma constante evolução. E aos meus filhos, que juntos com a mãe sempre foram pacienciosos comigo e com suas atitudes fortes me fortalecem a cada dia.

Minha mãe, Carmen pela construção do que me tornei hoje, sempre guiando meus passos e aparecendo nas horas em que eu mais preciso, sempre esta ao meu lado. Meu pai (*in memorian*) sua perseverança me ajudaram a superar essa meta, nossa história terá sua marca, né seu "Chica".

Ao amigo e motivador Berger, assim que soube da possibilidade não mediu esforços para minha vitória. Coração generoso que acolhe aos bons, sempre me desafiando, aprendi muito com esses anos.

Ao meu orientador Prof. Dr Mário Alexandre Coelho Sinhoreti, por acolher de maneira sempre cordial as minhas dúvidas e questionamentos, e providenciar os materiais necessários para o desenvolvimento desde trabalho. Precisamos treinar nosso boliche!!!

A Prof. Dra. Veridiana Camilotti pela oportunidade de ser aluno da primeira turma de mestrado da Unioeste em Odontologia e ao Prof. Dr. Marcio José Mendonça, pela atenção disponibilizada e pela objetividade nas orientações, renderam muitas horas de estudo e de forma clara conduziu o meu pensamento e trabalho ao êxito.

A Prof. Dra. Ana Lúcia Carrinho Ayaroza Rangel que me ensinou a pescar e não simplesmente me deu de comer, fica o exemplo que todos somos capazes de superar a nós mesmos, o maior obstáculo e o nosso ócio! Significa que teremos mais a produzir.

Ao Prof. Dr. Mauro Carlos Agner Busato, colega de formação e parceiro nas práticas desportivas, obrigado pelo apoio e orientações!

A Prof. Dra. Sara Sagae pelo auxílio no trato com os animais e pela oportunidade de utilizar o laboratório para a fase operatória do trabalho, assim

como o Prof. Dr. Alexandre Lotti pela orientação e pelo espaço utilizado junto ao laboratório da fisioterapia.

A Prof. Dra. Nereida pela maneira calorosa que sempre me recebeu e possibilitou o desenvolvimento desde trabalho.

Aos meus guias nos laboratórios e nas práticas clínicas com os animais os Técnicos: Assis e Edson, pelo apoio e pelas horas de jornada, mesmo em dias da copa do mundo.

A Marlene Baú, pelo processamento histológico e confecção das lâminas desta pesquisa e pelas palavras de motivação durante nosso trabalho.

As colegas Renata e Jéssica pelo aporte junto a análise das lâminas e por dividir espaço no laboratório.

Aos meus colegas de Mestrado pelo companheirismo nesses dois anos, vencemos essa etapa, que venha o doutorado.

Ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Odontologia da Universidade do Oeste do Paraná, professores, funcionários e colaboradores.

"O cientista não é o homem que fornece as verdadeiras resposta; é quem faz as verdadeiras perguntas."

(Claude Lévi-Strauss)

SUMÁRIO

x
X
X
1
3
7
12
16
17
22

Lista de Figuras

Figura 1: Mesa Operatória e abertura cavidade oral	4
Figura 2: Motor Elétrico – Broca utilizada	5
Figura 3: Capeamento pulpar	6
Figura 4: Histológico 7 dias – resposta inflamatória	8
Figura 5: Histológico 7 dias – estrutura mineralizada	8
Figura 6: Histológico 14 dias – estrutura mineralizada	9
Figura 7: Histológico 21 dias – estrutura mineralizada	10
Lista de Quadros	
Quadro 1: Grupos experimentais.	
Quadro 2: Escores utilizados para análise histológica - Estrutura mineralizada.	
Lista de Quadros e Tabelas	
Tabela 1: Resultados estatísticos – Estrutura mineralizada – continuidade	10
Tabela 2: Resultados estatísticos – Estrutura mineralizada – morfologia	11

RESUMO

O capeamento pulpar direto visa à proteção da polpa por um material bioativo que permita a manutenção da vitalidade pulpar e a formação de barreira mineralizada. Assim, o objetivo deste estudo foi comparar histologicamente a resposta pulpar frente a materiais dentários, quanto à continuidade e morfologia da estrutura mineralizada. Foram utilizados 108 (cento e oito) dentes de 54 (cinquenta e quatro) ratos Wistar, machos com 8 (oito) semanas de idade. Cavidades circulares foram preparadas na face mesio-oclusal dos primeiros molares superiores e capeadas de acordo com o grupo ao qual pertencia o animal: grupo 1: com hidróxido de cálcio (CH); grupo 2: MTA e grupo 3: Biodentine®. Todas as cavidades foram seladas com cimento de ionômero de vidro modificado por resina (Vitremer 3M -ESPE) e os animais eutanasiados em períodos predeterminados de 7 (sete), 14 (quatorze) e 21(vinte e um) dias. Posteriormente as maxilas removidas, fixadas e confeccionadas lâminas coradas H.E. (Hematoxilina e Eosina) para avaliação histológica descritiva da inflamação e da formação da barreira mineralizada. Os resultados demostraram que o MTA e o Biodentine® promovem reações inflamatórias menos intensas quando comparados ao CH. A comparação estatística (Kruskal-Wallis) da formação e da qualidade da barreira de dentina formada demonstrou diferença estatística aos 21 dias entre os grupos de CH para o MTA e Biodentine, e estes dois últimos similares entre si. Pode-se concluir que o MTA e o Biodentine® induzem a arquitetura de uma barreira mineralizada mais contínua e uniforme e a uma resposta pulpar menos intensa quando comparados ao CH.

PALAVRAS-CHAVE:

Capeamento pulpar direto, ponte de dentina, MTA, biodentine®.

ABSTRACT

The direct pulp capping aims to protect the pulp by a bioactive material, allowing the maintenance of pulp vitality and the formation of mineralized barrier. The objective of this study was histologically comparing the pulp response of different materials, for continuity and morphology of the mineralized structure. It was 108 (one hundred and eight) teeth of 54 (fifty-four) male Wistar rats, eight (8) weeks old. Circular cavities were prepared in mesio-occlusal surface of the upper first molars and capped in accordance with the Group, which included the animal: group 1 with calcium hydroxide (CH); Group 2: MTA and group 3: Biodentine®. All cavities were sealed with cement resin modified glass ionomer cement (3M ™ Vitremer -ESPE) and the animals euthanized at predetermined periods of seven (7), fourteen (14) and 21 (twenty one) days. The jaws were removed and fixed slides prepared and stained with HE (hematoxylin and eosin) for descriptive histological evaluation of inflammation and the formation of mineralized barrier. The results showed that the MTA and the Biodentine® exhibit less intense inflammatory reactions when compared to the CH, and the statistical comparison (Kruskal-Wallis) of formation and quality of the formed dentin barrier statistically different at 21 days between the CH groups for MTA and Biodentine, which were similar to each other. It can be concluded that the MTA and Biodentine® induce mineralized architecture of a more continuous and uniform barrier and less intense when compared to pulp response to CH.

KEY-WORDS:

Direct pulp capping, dentin barrier, mineral trioxide aggregate, biodentine®.

INTRODUÇÃO

A preservação da vitalidade pulpar representa a manutenção de todas as funções do elemento dental, assim como seu completo desenvolvimento. A polpa desempenha funções essenciais como sensorial e defesa, assim como a capacidade em produzir dentina de reparação (Tziafas, 1994; Modena *et al.*, 2009).

A principal causa da inflamação pulpar é a cárie dentária e segundo Cohenca et al. 2013, essa é uma infecção progressiva da dentina, que pode conduzir à inflamação e, finalmente, à necrose da polpa. Além dos desafios ácidos, a polpa pode sofrer lesões químicas ou mecânicas, e as consequências podem ser exposições pulpares que resultam em quadros graves de dor e infecção. Nessas situações, o capeamento pulpar direto é um procedimento alternativo à extração ou tratamento dos canais radiculares (Hilton, 2009; Cho et al., 2013; Hilton et al., 2013).

O revestimento pulpar tem como objetivo induzir a formação de tecido mineralizado na região de exposição, e assim, manter a vitalidade do dente (Hasheminia, 2010; Delfino *et al.*, 2010). Por essa razão, a seleção do material utilizado para esse procedimento influencia no prognóstico do tratamento (Cohenca *et al.*, 2013).

A polpa é capaz de tolerar grande quantidade de materiais restauradores se as bactérias e suas toxinas forem eliminadas (Hilton, 2009). De acordo com Laurent 2011, a manutenção da polpa após lesões cariosas, traumáticas ou iatrogênicas continua a ser um desafio de primordial importância, particularmente em dentes permanentes imaturos, nos quais a vitalidade pulpar permite a conclusão da formação radicular.

Desse modo, os cirurgiões dentistas têm utilizado capeamento pulpar direto objetivando manter a vitalidade pulpar, utilizando hidróxido de cálcio (CH) que em contato com tecido pulpar promoveria cauterização superficial com zonas de necrose, pela penetração dos íons hidroxila, conferindo poder bactericida, devido ao elevado pH (12,5), e ainda levaria a formação de ponte de dentina no limite entre a zona de necrose e a polpa viva. (Holland *et al.*, 2002) O hidróxido de cálcio tem sido considerado padrão-ouro para tal procedimento (Queiroz, *et al.*, 2005) porém, esse material apresenta algumas desvantagens tais como: porosidade na ponte de dentina produzida, má aderência à dentina e ainda o fato de não produzir bom selamento a longo prazo (Cohenca *et al.*, 2013).

Em 1993, Torabinejad desenvolveu na Universidade de Loma Linda (USA), um cimento de silicato de cálcio, o MTA (Agregado Trióxido Mineral) que foi indicado para perfurações radiculares e posteriormente para capeamentos pulpares (Pitt Ford *et al.*, 1995).

O produto da reação química desse material em contato direto com a polpa leva a formação de cristais de cálcio, similares aos encontrados no CH (Lee *et al.*, 1993). A natureza superior do MTA quando comparado ao hidróxido de cálcio, em termos de capacidade de vedação, qualidade de dentina formada (Min *et al.*, 2008) e biocompatibilidade (Zhao *et al.*, 2005; Mota *et al.*, 2010), vem apontando para a substituição do CH por esse material nos procedimentos de capeamento pulpar direto (Paranjpe *et al.*, 2011).

Recentemente novos cimentos à base de silicato tricálcico foram desenvolvidos(Septodont, Saint-Maur-des-Fosses, França, 2009), compostos por pó de: silicato tricálcico, silicato dicálcico, carbonato de cálcio, óxido de cálcio e óxido de zircônio (radiopacificador) e líquido contendo: água, cloreto de cálcio(polímero hidrossolúvel e responsável por acelerar o tempo de pressa do material) e policarboxilato modificado(conferindo plasticidade ao material) (Laurent *et al.*, 2011).

Inicialmente foram desenvolvidos como substitutos da dentina, porém, em contato direto com a polpa apresentaram resultados favoráveis na indução de formação de tecido mineralizado. (Peng et al., 2011; Zanini et al., 2012; Nowicka et al., 2013; Gandolfi et al., 2013; Tziafa et al., 2014; Rossi et al., 2014). Além de sua biocompatibilidade (Mori et al., 2014) apresentou também vantagens como viscosidade e o tempo de presa reduzido quando comparado ao MTA (Perard et al., 2013).

As investigações em dentes de modelos animais têm sido bastante utilizadas e segundo Dammaschke 2010, o molar do rato Wistar apresenta uma semelhança anatômica, biológica e histológica com o dente humano, sendo considerado por ele um molar em miniatura, com uma velocidade de reparação superior, quando comparado com dentes humanos. Devido a facilidade de manuseio e apresentar resposta histológicas semelhantes em procedimentos de capeamento pulpar direto, e um modelo válido para a pesquisa (Dammaschke, 2010).

Diante da necessidade de compreender melhor a atuação de diferentes materiais indicados para proteção de polpas expostas do ponto de vista histológico, o objetivo do presente trabalho foi comparar histologicamente a resposta pulpar a

diferentes materiais, quanto à continuidade e morfologia da estrutura mineralizada, após capeamento pulpar direto de 3 (três) diferentes materiais dentários.

METODOLOGIA

Animais

O protocolo experimental desse trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética para Uso de Animais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE)(Anexo 01).

Neste estudo foi utilizado um modelo animal visando à análise histológica da resposta pulpar frente a materiais dentários em contato direto com a polpa. Nesta perspectiva, foram observados 108 primeiros molares superiores de 54 ratos (*Rattus norvegicus*, albinos, Wistar), machos, com 56 dias de idade (Bowen, W H, 2013), pesando aproximadamente 200 gramas e distribuídos aleatoriamente entre 3 (três) grupos de 18 (dezoito) animais, divididos em 3 (três) períodos de tempo. (Quadro 1)

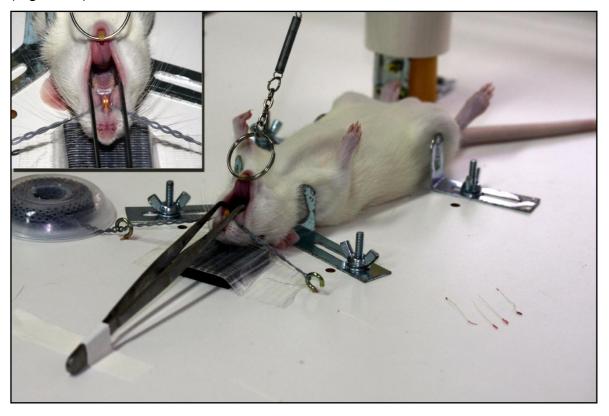
Quadro 1 - Grupos de animais experimentais com períodos de eutanásia e material utilizado em cada grupo

GRUPO	DESCRIÇÃO	Animais	EUTANASIA		
			7 dias	14 dias	21 dias
01	Grupo Controle CH	18	6	6	6
02	Grupo MTA	18	6	6	6
03	Grupo Biodentine®	18	6	6	6

Capeamento Pulpar

Os animais foram anestesiados com uma combinação de 1 mL de ketamina 10% (Dopalen injetável, Ceva Saúde Animal, Paulínia, SP, Brasil) e 0,2mL de xilazina 2% (Anasedan injetável, Ceva Saúde Animal, Paulínia, SP, Brasil), diluídos em 3,8 mL de solução salina, por meio de uma injeção intraperitoneal (0,1mL da solução/50g peso animal) (Dammaschke, 2010) e posicionados em mesa operatória apropriada (Maurice *et al.*, 1955, Kirschneck *et al.*, 2013) a qual permitiu a manutenção da

abertura bucal dos roedores, facilitando o acesso aos dentes da região da maxila. (Figura 01)



(Figura 01 - Mesa operatória para imobilização e manutenção da abertura da cavidade oral do animal)

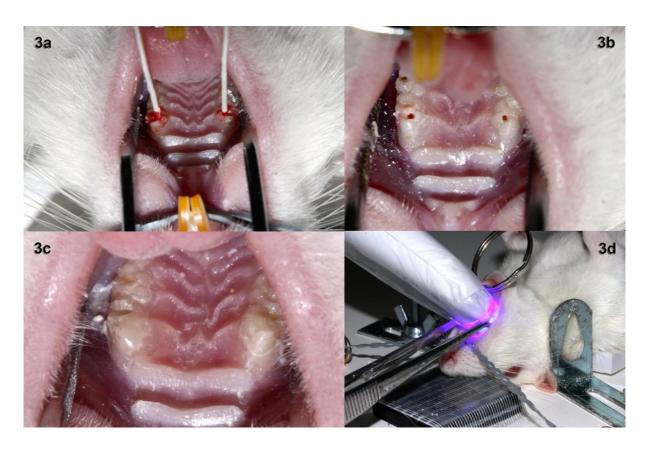
Na face mesio oclusal dos primeiros molares superiores foram preparadas cavidades circulares, com auxilio de motor elétrico (Driller, BLM 600 Plus, Carapicuiba, SP, Brasil) a 3000 RPM com uma broca ISO 006 LN 28mm (D 205 LN, Dentsply, Maillefer, Suiça) (figura 02), e as exposições pulpares verificadas com limas C+#15 (Dentsply, Maillefer, Suiça) (Simon, 2008; Dammaschke, 2010).



(Figura 02- Motor elétrico Driller – BLM 600 plus e Broca LN D205 (Denstsply/Maillefer)

A hemorragia pulpar foi controlada e a cavidade seca com cones de papel absorventes esterilizados (Figura 03a).

O capeamento realizado sobre as exposições pulpares (Figura 3b) seguindo os grupos: o grupo 01 - CH P.A. na forma de pó, o grupo 02 - MTA, manipulado conforme orientação do fabricante em placa de vidro e o grupo 03 - Biodentine® (Septodont, Saint-Maur-des-Fosses, França), manipulado em placa de vidro. Os materiais foram aplicados com auxílio do dispositivo metálico, o Aplicador de MTA Angelus (Angelus, Londrina, PR, Brasil) e as cavidades seladas, de maneira a não ficarem expostas por ionômero de vidro modificado por resina, Vitremer (3M ESPE do Brasil Ltda, Súmare, SP, Brasil)(figura 3c), e ainda, fotopolimerizadas por 20 segundo, com aparelho Radii-cal (SDI – Innovative Dental Produtcts, Austrália), com potência de 1200mW/cm2 (figura 03d). Os animais foram eutanasiados com 7, 14 e 21 dias após capeamento pulpar.



(**Figura 3**: 3a – Controle da hemorragia com cones de papel; 3b – cavidades arredondadas, local da exposição; 3c – Selamento com Ionômero de Vidro Vitremer (3M-ESPE); 3d – Fotopolimerização 20 segundos)

Processamento Histológico

As maxilas foram removidas, devidamente nominadas, acondicionadas em recipientes plásticos e fixadas em solução de formol a 10% por 30 dias. Após este período, as mesmas seguiram lavadas em água corrente por 1 hora e imersas em solução de ácido descalcificante (cloreto de hidrogênio, ONU 1789, Allkimia, Campinas, SP. Brasil) por 24 horas em temperatura ambiente, e avaliadas a fim de se verificar o grau de descalcificação atingido.

Após este decurso de tempo, as peças foram novamente lavadas em água corrente por 1 hora para realização do processamento histológico automático que durou aproximadamente 12 horas (Processador automático de tecidos, Leica Microsystems® TP1020, Nussloch, Alemanha). A partir deste, seguiu-se para a inclusão das peças e obtenção de blocos de parafina (Parafina Purificada, cód. 1228, lote 1008459, Vetec Química Fina, Rio de Janeiro, Brasil). Estes blocos foram cortados em micrótomo semiautomático (Hestion®, ERM3000, Daintree Scientific, St. Helens, Austrália), cortes de 5µm, para a confecção das lâminas histológicas, coradas pela técnica histoquímica de Hematoxilina e Eosina. Em uma mesma lâmina foram colocados até cinco cortes visando obter um corte longitudinal do dente preparado, permitindo a análise em microscopia de luz.

Análise Histológica

As análises histológicas foram realizadas por observador calibrado, de forma cega, onde avaliou-se 2 (dois) aspectos no local da exposição pulpar, utilizando aumento de 40x e 100x. Os seguintes parâmetros foram analisados: a resposta inflamatória pulpar de forma descritiva e a barreira de dentina formada na sua continuidade e morfologia, e classificou-se os resultados por escores descritos com o quadro 2. A avaliação segundo adaptações das escalas definidas por Nowicka *et al.*, 2013.

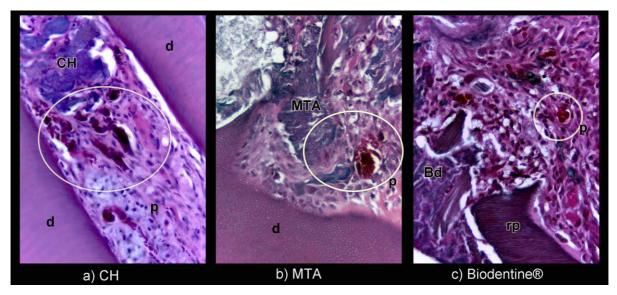
Quadro 2 – ESCORES UTILIZADOS PARA ANÁLISE HISTOLÓGICA			
ESTRUTURA MINERALIZADA			
Escores	Continuidade		
1	completa		
2	presente parcialmente		
3	ausente		
Escore	Morfologia		
1	dentina tubular		
2	deposição irregular de tecido duro ou dentina atubular		
3	apenas pequena camada de deposição de tecido duro		
4	ausência de deposição de tecido duro		

ANÁLISE ESTATÍSTICA

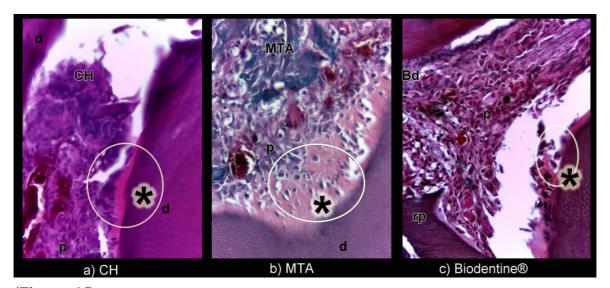
Os dados foram organizados em tabelas e submetidos à análises estatísticas realizadas por meio do programa Bioestat 5.1 (Instituto Mauá, Amazonas, Brasil), utilizando o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn, com nível de significância de 95%.

RESULTADOS

A resposta pulpar apresentava aos 7 dias uma hiperemia severa (figura 04) em todos os casos, independente do material utilizado, com um infiltrado inflamatório agudo, com extensões diferentes, sendo o CH que promoveu a maior extensão dos processos inflamatórios, seguido pelo MTA e por ultimo o Biodentine® . Restos necróticos e raspas de dentina estavam presentes em todos os espécimes. Nenhuma amostra demostrou continuidade de barreira formada no local da exposição, porém foram observadas massas amorfas, tanto isoladas na polpa, quanto em continuidade com a dentina (figura 05) sem apresentarem diferenças estatísticas entre si (p>0,05).



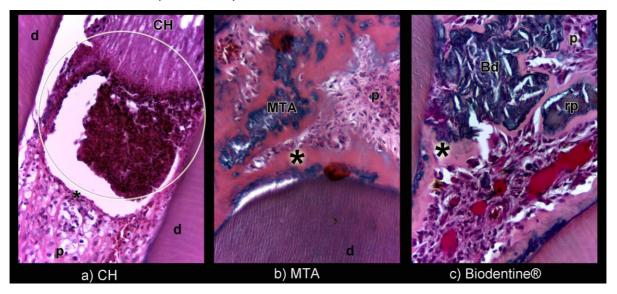
(**Figura 04:** Fotomicrografia das polpas dos animais eutanasiados com 7 dias após exposição pulpar dos diferentes grupos experimentais. Materiais utilizados a) CH, b)MTA e c)Biodentine®, hiperemia pulpar severa em todas as amostras, com infiltrado inflamatório agudo com intensidade maior para o CH, seguido do MTA e Biodentine. Imagem em M.O. com aumento de 40x aumento / Coradas com H.E. Avaliação com 7 dias. p=polpa; d=dentina; rd=raspas de dentina; CH=hidróxido de cálcio; MTA=MTA; Bd=Biodentine®).



(**Figura 05** - Fotomicrografia das polpas dos animais eutanasiados com 7 dias após exposição pulpar dos diferentes grupos experimentais. Materiais utilizados a) CH, b)MTA e c)Biodentine®, formação de massas amorfas. Imagem em M.O. 40x aumento /H.E avaliação com 7 dias. p=polpa; d=dentina; * = massas amorfas; rd=raspas de dentina; CH=hidróxido de cálcio; MTA=MTA; Bd=Biodentine®).

Aos 14 dias, 70% das amostras capeadas com CH P.A. apresentavam necrose total nos canais radiculares, e foi notado um infiltrado inflamatório crônico monocelular na região de periápice destas amostras. As demais amostras demonstravam início de formação amorfa de material mineralizado em meio de tecido celularizado. As polpas,

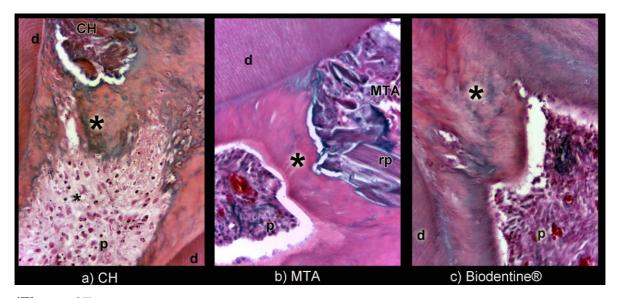
capeadas com Biodentine® e MTA, apresentavam formação amorfa de tecido mineralizado no local da exposição e em contato com o material utilizado, tanto em evolução, quanto em continuidade com a dentina (Figura 6). Na análise da barreira mineralizada houve diferenças estatísticas em continuidade, sendo as capeadas com hidróxido de cálcio diferentes das do grupo MTA e em morfologia, onde o CH era diferente tanto do MTA, quanto do Biodentine®, e estes não apresentavam diferenças estatísticas entre si. (Tabela 01).



(**Figura 6** - Fotomicrografia das polpas dos animais eutanasiados com 14 dias após exposição pulpar dos diferentes grupos experimentais. Materiais utilizados a) CH; b) MTA e c) Bd. Análise da barreira de dentina formada. a)CH=hidróxido de cálcio – a região circulada destaca a zona de necrose promovida pelo CH e inicio da formação amorfa de tecido mineralizado (*); b) MTA = formação amorfa de tecido mineralizado (*); c) Bd=Biodentine® - formação amorfa de tecido mineralizado (*).Imagem em M.O. com aumento de 40x aumento / Coradas com H.E. Avaliação com 14 dias p=polpa; d=dentina; *=ponte de dentina; rd=raspas de dentina).

Aos 21 (vinte e um) dias a polpa com infiltrado inflamatório discreto e a formação de tecido duro foi mais presente em todos os casos, sendo que no grupo 2 (dois) e 3 (três) a barreira formada se apresentava, por vezes, obliterando todo o canal radicular, com aspecto de uma formação semelhante a um cálculo pulpar (dentina atubular). (Figura 7)

A formação de tecido mineralizado apresentou diferença estatística em continuidade entre o grupo de CH para o Biodentine (Tabela 02).



(**Figura 07** - Fotomicrografia das polpas dos animais eutanasiados com 21 dias após exposição pulpar dos diferentes grupos experimentais. Análise da barreira de dentina formada. a)CH=hidróxido de cálcio – formação da barreira de dentina (*); b) MTA = formação da barreira de dentina (*); c) Bd=Biodentine® - formação da barreira de dentina (*). Imagem em M.O. com aumento de 40x aumento / Coradas com H.E. Avaliação com 21 dias p=polpa; d=dentina; *=ponte de dentina; rd=raspas de dentina).

As tabelas 1 e 2 expressam os resultados estatísticos e os valores médios e desvio-padrão dos escores obtidos para os grupos experimentais de acordo com o tempo. Foram considerados valores significativos quando p<0,05.

Tabela 1: Escore da análise histológica da polpa dos dentes dos animais experimentais de acordo com o tempo, para análise da estrutura mineralizada – continuidade.

CONTINUIDADE	7 dias	14 dias	21 dias
Ca (OH)₂	3.00(<u>+</u> 0.00) Aa	2.90(<u>+</u> 0.32) Aa	2.67(<u>+</u> 0.50) Aa
MTA	3.00(<u>+</u> 0.00) Aa	2.00(<u>+</u> 0.00) Ba	1.91(<u>+</u> 0.94) ABa
Biodentine®	3.00(<u>+</u> 0.00) Aa	2.10(0.48) ABa	1.70(<u>+</u> 0.48) Bb

Letras minúsculas diferentes na mesma linha significam diferenças estatisticamente significantes, p< 0,05 Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna significam diferenças estatisticamente significantes, p< 0,05.

Tabela 2: Escore da análise histológica da polpa dos dentes dos animais experimentais de acordo com o tempo, para análise da estrutura mineralizada – morfologia.

MORFOLOGIA	7 dias	14 dias	21 dias
Ca (OH)2	4.00 (<u>+</u> 0,00)Aa	3.70(<u>+</u> 0,48) Aa	3.22(<u>+</u> 0,97) Aa
MTA	3.63(<u>+</u> 0,52) Aa	2.50(<u>+</u> 0,55) Ba	2.82(<u>+</u> 0,98) Aa
Biodentine®	3.90(<u>+</u> 0,32) Aa	2.70(<u>+</u> 0,67) Ba	2.20(<u>+</u> 0,42) Ab

Letras minúsculas diferentes na mesma linha significam diferenças estatisticamente significantes, p< 0,05. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna significam diferenças estatisticamente significantes, p< 0,05.

DISCUSSÃO

O revestimento pulpar direto, busca preservar a vitalidade da polpa, através da aplicação de material, pontualmente sobre o tecido, que seja capaz de promover sua recuperação frente a injúrias químicas, físicas ou mecânicas. A busca pelo material ideal fez surgir novos materiais, e tem fomentado pesquisas com objetivo de avaliar seus efeitos e confrontar seus resultados com materiais já utilizados.

O CH introduzido em 1921 por Hermman (Zander, 1939) é um material de baixo custo, largamente utilizado e foi considerado por muitos anos o padrão-ouro (Estrela e Holland, 2003; Cohenca, 2013). Apesar de ter demonstrado sua biocompatibilidade e capacidade de formar barreira mineralizada quando em contato direto com o tecido pulpar (Queiroz et al., 2005; Tran et al., 2012) este material esta sendo substituído por novos materiais, que apresentam melhores propriedades físicas e maior biocompatibilidade (Zhao et al., 2005; Parirokh e Torabinejad, 2010) ao formarem barreiras de dentinas mais uniformes (Min et al., 2008). Sabe-se que, o CH tem um efeito inicial prejudicial, promovendo uma cauterização superficial e zona de necrose, devido à penetração dos íons hidroxila (Holland et al., 2002). O MTA despontou em 1993, por Torabinejad e esta sendo considerado uma alternativa com resultados superiores ao CH (Pitt Ford et al., 1996) tomando o seu lugar de padrãoouro (Paranjpe et al., 2010). Recentemente, em 2009, um novo cimento a base de silicato tricálcico, o Biodentine® foi desenvolvido pela Septodont (Saint-Maur-des-Fosses, França) apresentando como vantagens sua viscosidade e tempo de presa quando comparado ao MTA (Perard et al., 2013). No entanto, poucos estudos compararam o CH, MTA e o Biodentine®.

No presente estudo, utilizou-se um modelo experimental animal, com ratos Wistar devido a facilidade de manuseio, ao fato de que a resposta pulpar e a recuperação após capeamento pulpar direto de dentes de roedores são histologicamente comparáveis com os dos seres humanos (Simon, S. 2008; Dammaschke, 2010; Bowen *et al.*, 2013).

A idade ideal para a execução de exposição pulpar é de 8 semanas, pois os ratos eram jovens, com formação radicular completa, câmaras pulpares amplas, evitando efeitos adversos decorrentes da idade pulpar, como: redução da câmara pulpar, fibrose, atrofia, perda de celularidade, calcificações distróficas, diminuição de células estaminais e degeneração de odontoblastos (Bernick e Nedelman, 1975;

Cohenca, 2013; Bowen *et al.*, 2013). Em resposta aos agentes agressores e a sua integridade forma-se a dentina reacional (odontoblastos primários) ou reparadora, composta de neo-odontoblastos originários da diferenciação celular de células tronco, dando origem à barreira dentinária (Murray *et al.*, 2003). O processo de recrutamento e diferenciação destas células ainda não esta totalmente elucidado, mas é evidente que a formação de uma barreira mineralizada resultante de um capeamento pulpar direto tem origem nesta transformação celular (Tziafas *et al.*, 2010).

Segundo Holland *et al.*, 1978, o preparo da cavidade e o trauma operatório em uma exposição pulpar pode ser considerado grande, bem como as raspas de dentina encontradas na polpa podem interferir nos resultados iniciais da resposta pulpar. O isolamento absoluto e a irrigação das cavidades pode minimizar o trauma operatório e a quantidade de raspas de dentina em contato com a polpa. Na presente pesquisa, em análise as lâminas, raspas de dentinas eram comuns a todas as espécimes, assim como a formação de barreira mineralizada junto a essas raspas de dentina para os grupos tratados com MTA e Biodentine® no período de 21 dias.

As amostras analisadas histologicamente no período de 7 dias, demostraram a capacidade da polpa em responder a agressão, representada neste período com inflamação do tecido pulpar. Segundo Goldberg, 2008, a reparação celular tem início após o controle da inflamação, com a substituição da parte lesada ou necrótica por células indiferenciadas, que após transformação darão origem a um tecido semelhante ao anterior e cita ainda três fases sucessivas na renovação celular: ligeira inflamação associada com o recrutamento celular, proliferação celular preenchendo o local da lesão e, em seguida, a diferenciação celular na polpa, originando neo-odontoblastos para a produção de dentina de reparação.

Resultados da inflamação pulpar inicial e da zona de necrose relatados neste estudo corroboram aos achados dos estudos de Nair, 2008, Acorrinte *et al.*, 2008 e Tran *et al.*, 2012. Esta pesquisa não apresentou diferença estatística, entre os três materiais testados para a formação de ponte de dentina aos 7 dias, assim como Dammaschke *et al.*, 2010, obtiveram resultados semelhantes entre o CH e o MTA na primeira semana após capeamento pulpar direto em análise imunohistoquímica.

Apesar de utilizada e recomendada na forma pura (Codeiro *et al.*, 1985; Accorinte *et al.*, 2008), o hidróxido de cálcio promoveu uma reação inflamatória mais intensa (Nair *et al.*, 2008; Mente *et al.*, 2010), quando comparado ao MTA e ao Biodentine®, que demostraram resultado similares entre si. Estudos anteriores

haviam demonstrado que o CH pode gerar áreas de necrose, quando em contato com os tecidos da polpa, o que pode ser atribuído ao seu efeito cáustico inicial (Holland *et al.*, 2002).

Sendo assim uma resposta inflamatória mais intensa do CH, quando comparado ao MTA e ao Biodentine pode influenciar na formação de barreira mineralizada. Fato que coincide para a diferença estatística encontrada aos 14 dias para a barreira mineralizada formada em análise da continuidade, onde o CH apresentou resultado inferior ao MTA. Todas as amostras capeadas com MTA apresentavam formação parcial de ponte de dentina.

Além disso, na análise morfológica aos 14 dias, o CH apresentou resultados estatisticamente inferiores ao MTA e ao Biodentine, que apresentaram-se similares entre si.

Análise do capeamento pulpar direto realizada por Nowicka *et al.*, 2013 com dentes humanos, onde amostras foram preparadas em cortes seriados no plano linguobucal de 3 microns e coradas com H.E. e codificadas para visualização em M.O. em luz normal e com filtro ultravioleta, por patologista experiente. A quantidade de formação de tecido duro formado no local do capeamento foi quantificado em continuidade, morfologia e extensão. Concluíram que a formação de barreira mineralizada, a ausência de inflamação e a eficácia similar com o MTA faz do Biodentine® uma alternativa ao capeamento pulpar direto.

As barreiras formadas neste estudo se apresentavam porosas com o uso de CH, não sendo ideais para um bom selamento bacteriano, assim como descreveu Paranjpe et al., 2010. O CH apresentou barreira porosa, a partir da segunda semana e assim como Tran et al., 2012, que concluíram, o hidróxido de cálcio utilizado em capeamento pulpar direto produz, em polpas de ratos, aos 14 dias barreiras porosas quando comparado ao Biodentine®. Em contrapartida, formações mais densas e extensas foram observadas quando se utilizou o MTA ou Biodentine®. As mineralizações formadas apresentaram-se como uma dentina atubular, semelhante a uma calcificação pulpar e diferente da dentina reacional (Al-Hezaimi et al., 2011).

A análise estatística dos resultados nesse trabalho demonstrou para morfologia da barreira mineralizada formada superioridade para a deposição irregular de tecido duro do MTA e Biodentine perante o CH, que apresentava pequenas deposições de tecido duro em 14 dias.

Dentre os materiais pesquisados, segundo Mota *et al.*, 2010 o CH é solúvel, sendo hidrófobo e reabsorvível. Enquanto, o MTA, com partículas hidrófilas, apresenta um tempo de presa prolongado, em torno de 2 horas e 45 minutos, ainda sendo solúvel, 24% após 78 dias de armazenamento, quando armazenado em água, o que necessitaria de um capeamento pulpar realizado em duas sessões (Torabinejad e Chivan, 1999; Hilton, 2009).

Entretanto, o Biodentine® apresenta tempo de presa em 12 minutos, e apresente maior capacidade seladora. Todos os materiais promovem alcalinização do meio, devido ao pH em torno de 12,5 e conferem poder antibactericida aos materiais. (Goldberg *et al.*, 2008). Na rotina dos consultórios o material Biodentine® merece destaque por induzir formação de barreira mineralizada similar ao MTA e apresentar tempo de presa reduzido, permitindo assim, a confecção de restaurações definitivas após o capeamento pulpar direto, evitando sessões clínicas adicionais, o que eliminaria o risco de nova exposição pulpar e contaminação secundária, reduzindo sobre maneira o estresse ao paciente e o custo final dos tratamentos.

A disponibilidade de íons cálcio estimula formação de um precipitado de carbonato de cálcio o que contribui para a mineralização, e parece claro que, a forma e o tempo para a liberação de íons cálcio e hidroxila interferem na estrutura mineralizada formada. No CH a liberação dos íons cálcio ocorre rapidamente, sendo esse um irritante aos tecidos e gerador de efeito cáustico superficial (Holland *et al.*, 2002; Paranjpe *et al.*, 2010). Os materiais de silicato de cálcio têm liberação mais lenta e gradativa e dispersam mais íons cálcio quando comparados a cimentos a base de CH. Já, o Biodentine®, apresenta maior liberação de cálcio e atividade alcalina estendida, e melhores propriedades mecânicas quando estabelecido paralelo com o MTA (Gandolfi *et al.*, 2013; Natele *et al.*, 2014). Em nossos resultados a diferença estatística na análise morfológica da barreira mineralizada formada, o Biodentine® apresentou-se superior ao CH, aos 21 dias, resultados esses similares a outros estudos. (Mente *et al.*, 2010)

Os resultados obtidos no presente estudo demostraram a superioridade dos novos materiais como MTA e Biodentine® quando utilizados sobre polpas vivas em capeamentos diretos quando comparados ao CH. Dessa forma, a utilização de novos materiais a base de silicato de cálcio se apresenta como alternativa bastante viável e com características histológicas mais favoráveis do que o CH, considerado até então padrão-ouro para esse tratamento.

CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia empregada concluímos que:

- 1- Os três materiais testados apresentam a capacidade de induzir a formação de tecido mineralizado, quando em contato direto com o tecido pulpar;
- 2- A formação de barreira mineralizada apresentou melhores resultados para o Biodentine® e o MTA, quando comparados ao hidróxido de cálcio no período de 21 dias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Accorinte, M.L.R.; Louguercio, A.D.; Reis, A.; Carneiro, E.; Grande, R.H.M; Murata, S.S.; Holland, R. Response of human dental pulp capped with MTA and calcium hydroxide power. Operative Dentistry, 2008. Vol.33(5), pp.488-495.
- Al-Hazaimi, K.; Salamed, Z.; Al-Fouzan, K.; Al-Rejaie, M.; Tay, F.R. Histomorphometric and micro-computed tomography analysis of pulp response to three differente pulp capping materials. J Endod.2011 April, Vol. 37(4), pp. 507-512.
- 3. Bernick, S.; Nedelman, C. Effect of aging on the human pulp. J Endod.1975, Vol.1(3), pp.88-94.
- 4. Bogen, G., Kim, J.S.; Bakland, L.K. Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate. JADA 2008 Mar, Vol.39, pp. 305-309.
- Bowen, W. Rodent model in caries research. Odontology, 2013, Vol.101(1), pp.9-14
- 6. Cho, S-Y.; Seo, D-G.; Lee, S-J.; Lee, J.; Lee, S-J.; Jung, I-Y. Prognostic Factors for Clinical Outcomes According to Time after Direct Pulp Capping. 2013 Mar, Vol. 39(3), pp 327–331
- 7. Cohenca, N; Paranjpe, A; Berg, J. Vital pulp therapy. Dent Clin North Am. 2013 Jan; Vol.57(1), pp.59-73.
- Cordeiro, R.C.L.; Gonzalez Novo, R.M.; Lia, R.C.C. Capeamento pulpar com materiais a base de hidróxido de cálcio. Estudo histológico comparativo em molares de ratos. Rev. Odontol. UNESP. 1985, Vol.14(1/2). pp.1-12.
- 9. Dammaschke, T. Rat molar teeth as a study model for direct pulp capping research in dentistry, Laboratory Animals, 2010, Vol.44(1), pp.1-6.
- 10. Dammaschke, T.; Stratmann, U.; Woff, P.; Sagueti, D.; Schafer, E. Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate: An immunohistologic comparation with calcium hydroxide in rodents. J Endod.2010 May, Vol. 36(5), pp. 814-819.
- 11. De Rossi, A.; Silva, L.A.; Gáton-Hernadez, P. Sousa-Neto, M.D.; Nelson-Filho, P.; Silva, R.A.; De Queiroz, A.M. Comparison of pulp response to

- pulpotomy and pulp capping with Biodentine and mineral trioxide aggregate in dogs. J. Endod.2014 Sep, Vol.40(9), pp. 1362-1369.
- 12. Delfino et al. Uso de novos materiais para o capeamento pulpar. Cerâmica, 2010, Vol. 56, pp. 381-388
- 13. Estrela, C.; Holland, R. Calcium hydroxide: study based on scientific evidences. J. Appl. Oral Sci. 2003, Vol. 11(4), pp.269-82.
- 14. Gandolfi, M.G.; Siboni, F.; Polimeni, A.; Bossu, M.; Riccitiello, F.; Rengo, S.; Prati, C. In vitro screening of the apatite-formation ability, biointeractivity and physical proprieties of a tricalcium silicate material for Endodontics and restorative dentistry. Dent.J. 2013, Vol.1, pp.41-60.
- 15. Goldberg, M. Farges, J-C.; Lacerda-Pinheiro, S; Six, N,; Jegat, N.; Decup, F.; Septier, D.; Carrouel, F.; Durand, S.; Chaussain-Miller, C.; Denbesten, P.; Veis, A.; Poliard, A. Inflammatory and immunological aspects of dental pulp repair. Pharmacological Research, 2008 Aug, Vol. 58(2), pp.137-147.
- 16. Hasheminia, S.M. et al. A comparative study of three treatment methods od direct pulp capping in canine teeth of cats: a histologic evaluation. Laser Med Sci. 2010, Vol.25, p. 9-15...
- 17. Hilton, TJ. Keys to Clinical Success with Pulp Capping: A Review of the Literature, Oper Dent. 2009 Sep-Oct; 34(5): 615-625.
- 18. Holland, R.; De Souza, V.; Delgado, R.J.M.; Murata, S.S. Agregado trióxido mineral (MTA): composição, mecanismo de ação, comportamento biológico e emprego clínico. Rev. Ciências Odontológicas. 2002. Vol 5(5), pp.7-21.
- 19. Holland, R.; De Souza, V.; Mello, W.; Nery, M.J.; Bernabé, P.F.E. Influência dos fragmentos de edentina no resultado do tratamento conservador da polpa dental exposta ou inflamada. Rev Gaucha de Odontol. 1978, Vol. 26(2), pp.98-102.
- 20. Kirschneck, C.; Proff, P.; Fanghaenel, J.; Behr, M.; Wahlmann, U.; Roemer, P. Differentiated analysis of orthodontic tooth movement in rats an improved rat model and three-dimensional imaging. Annals of Anatomy, 2013, Vol. 195, pp.539-553.
- 21. Laurent, P; Camps, J; About, I. Biodentine induces TGF-B1 realease from human pulp cells and early dental pulp mineralization. Int. Endod. J.2012, Vol. 45, pp.439–448.

- 22. Lee, S.J.; Monsef, M.; Torabinejad, M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of a lateral root perforations. J. Endod.1993, Nov. Vol.19(11), pp. 541-544.
- 23. Maurice, C G; Schour, I. Experimental cavity preparations in the molar of the rat. J Dent Res 1955, Vol.34, pp.:429–434
- 24. Mente, J.; Geletneky, B.; Ohle, M.; Koch, M.J.; Ding, P.G.F.; Wolff, Dreyhaupt, J.; Martin, N.; Staehle, H.J.; Pfefferle, T. Mineral trioxide aggegate or calcium hydroxide in direct pulp capping: an analysis of the clinical treatment outcome. J Endod. 2010, Vol. 36(5), pp. 806-813.
- 25. Min, K-S.; Park, H-J.; Lee, S-K.; Park, S-H.; Hong, C-U.; Kim, H-W.; Lee, H-H.; Kim, E-C. Effect of Mineral Trioxide Aggregate on Dentin Bridge Formation and Expression of Dentin Sialoprotein and Heme Oxygenase-1 in Human Dental Pulp. J Endod.2008, Vol.34(6), pp.666-670.
- 26. Modena, K.C.S.; Casas-Apayco, L.C.; Atta, M.T.; Costa, C.A.S.; Hebling, J.; Sipert, C.R.; Navarro, M.F.L.; Santos, C.F. Citotoxicity and biocombatibility of direct and indirect pulp capping materials. J. Appl. Oral Sci. 2009, Vol.17(6), pp.544-54.
- 27. Mota, C.C.B.O.; Brasil, C.M.V.; Carvalho, N.R.; Beatrice, L.C.S.; Teixeira, H.M.; Nascimento, A.B.L.; Vicente Silva, C.H. Propriedades e aspectos biológicos do agregado trióxido mineral: revisão da literatura. Rev. Odontol. Unesp, Araraquara, 2010. Vol. 39(1), pp. 49-54.
- 28. Mori, G.G.; Teixeira, L.M.; Oliveira, D.L.; Jacomini, L.M.; Da Silva, S.R. Biocompatibility evaluation of Biodentine in subcutaneus tissue of rats. J Endod. 2014 Sep, Vol. 40(9), pp. 1485-88.
- 29. Murray, P E; Hafez, A A; Smith, A J; Windsor, L J; Cox, C F; Histomorphometric analysis of odontoblast-like cell numbers and dentine bridge secretory activity following pulp exposure. Int Endod. J.2003, Fev. Vol.36(2), pp.106-116
- 30. Nair, P.N.R.; Duncan, H.F.; Pitt Ford, T.R.; Luder, H.U. Histological, ultrastructural on the response of healthy human pulps to experimental capping with mineral trioxide aggregate: a randomized controlled trial. Int.Endod.J., 2008, Vol.41(2), pp.422-444.

- 31. Natele, L.C.; Rodrigues, M.C.; Xavier, T.A.; Simões, A.; De Souza, D.N.; Braga, R.R. Ion release and mechanical properties of calcium silicate and calcium hydroxide materials used for pulp capping. Int. Endod. J.2015 Jan, Vol.48(1), pp.89-94
- 32. Nowicka, A.; Lipski, M.; Parafiniuk, M.; Sporniak-Tutak, K.; Lichota, D.; Kosierkiewcz, A.; Kaczmarek, W.; Buczkowska-Radlinska, J. Response of human dental pulp capped with Biodentine and mineral trioxide aggregate. J. Endod.2013 Jun, Vol.39(6), pp.743-747.
- 33. Paranjpe, A; Zhang, H; Johnson, J D. Effects of mineral trioxide aggregate on human dental pulp cells after pulp-capping procedures. J Endod, 2010, Vol.36, pp.1042–1047.
- 34. Paranjpe, A.; Smoot, T.; Zhang, H.; Johnson, J. D. Direct Contact with Mineral Trioxide Aggregate Activates and Differentiates Human Dental Pulp Cells. J Endod.2011, Vol.37(12), pp.1691-1695.
- 35. Parirokh, M; Torabinejad, M. Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review—Part I: Chemical, Physical, and Antibacterial Properties. J Endod.2010, Vol.36(1), pp.16-27.
- 36. Peng, W.; Jiang, L.; Li, L.; Zhu, Y.; Liu, W.; Zhai, W.; Chang, J. Effect of tricalcium silicate on the proliferation and odontogenic differentiation of human pulp cells. J Endod. 2011 Sep, Vol.37(9), pp. 1240-1246.
- 37. Perard, M.; Le Clerc, J.; Meary, F.; Pérez, F.; Tricot-Doleux, S.; Pellen-Mussi, P. Spheroid model study comparation the biocompatibility of Biodentine and MTA. J. Mater. Sci. Mater Med, 2013, Vol. 24(6), pp. 1527-1534.
- 38. Pitt Ford, T.R.; Torabinejad, M.; Abedi, H.R.; Bakland, L.K.; Karyawasam, S.P. Using mineral trioxide aggregate: as a pulp-capping material. Journal of the American Dental Association, 1996, Vol.127(10), pp. 1491-1494.
- 39. Queiroz, A.M.; Assed, S.; Leonardo, M.R.; Nelson-Filho, P.; Silva, L.A.B. Mta and calcium hydroxide pulp capping. J Applied Oral Science, 2005, Vol.13(2), pp.126.
- 40. Septodont Biodentine Scientific File Web. www.septodont.fr/fichiers_upload/biodentinescienticiffile.pdf . 07.02.2015

- 41. Simon, S; Cooper, P; Smith, A; Picard, B; Ifi, CN; Berdal, A. Evaluation of a new laboratory model for pulp healing: preliminary study. Int Endod J.2008, Vol.41(9), pp.781-790.
- 42. Torabinejad, M.; Watson, T.F.; Pitt Ford, T.R. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. J Endod.1993, Vol.19(12), pp.591-595.
- 43. Torabinejad, M.; Chivian, N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. J Endod.1999, Vol.25(3), pp.197-205.
- 44. Tran, X.V.; Gorin, C.; Willig, C.; Baroukh, B.; Pellat, B.; Decup, F.; Vital, S.; Chaussain, C.; Boukpessi, T. Effect of a calcium-silicate-based restorative cement on pulp repair. J. Dental Research, 2012 Dec, Vol. 91(12), pp. 1166-1171.
- 45. Tziafa, C.; Koliniotou-Koumpia, E.; Paradimitiou, S.; Tziafas, D. Dentinogenic responses after direct pulp capping of miniature swine teeth with biodentine. J Endod.2014, Vol.40(12), pp. 1967-71.
- 46. Tziafas, D. Konstantinos, K. Differentiation Potencial of Dental Papilla, Dental Pulp, and Apical Papilla Progenitor Cells. Journal of Endodontics, 2010, Vol.36(5), pp.781-789.
- 47. Tziafas, D. Mechanisms controlling secondary initiation of dentinogenesis: a review. Int Endod J. 1994, Vol.27(2), pp.61-74.
- 48. Zander, H.A. Reaction of the pulp to calcium hydroxide. J. Dent. Res. 1939 Vol. 18(8), pp. 373-379.
- 49. Zanini, M; Sautier, J M; Berdal, A; Simon, S. Biodentine induces immortalized murine pulp cell differentiation into odontoblast-like cells and stimulates biomineralization. J Endod.2012 Sep. Vol.38(9), pp.1220-1226.
- 50.Zhao, W.; Wang, J.; Zhai, W.; Wang, Z.; Chang, J. The self-setting proprieties and in vitro bioactivity of tricalcium silicate. Biomaterials, Nov. 2005, Vol.26(31), pp.6113-6121.

ANEXOS



Universidade Estadual do Oeste do Paraná Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA

PARECER DE PROTOCOLO

O protocolo intitulado "Avaliação Histológica do capeamento pulpar direto com Hidróxido de cálcio, MTA e Biodentine em ratos wistar em dieta cariogênica", sob vossa coordenação, foi avaliado pelo CEUA como APROVADO para execução em relação às seguintes alterações: Correção do número de animais, que por uma falha na redação do mesmo não considerou as 03 datas de abate. O número total de animais solicitado havia sido de 46 animais, porém considerando as datas de abate e os grupos totalizam 108 animais ratos Wistar.

ATENÇÃO!

O Certificado Experimental deste Protocolo, somente será emitido após o encerramento das atividades previstas e após o encaminhamento do Relatório Final ao CEUA. Este Parecer **NÃO** tem valor como Certificado Experimental.

Cascavel, 06/02/2014

Profa. Drà: Łuciana Oliveira de Fariña Coordenadora do CEUA Portaria nº 2861/2012-GRE

Anexo 1 – Parecer Comitê de Ética