



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

PAULA FERNANDA KRELING DOMINGUES

**AVALIAÇÃO DE PASTAS ENDODÔNTICAS PARA DENTES
DECÍDUOS À BASE DE IODOFÓRMIO COM COPAÍBA OU
GUACO**

Londrina
2013

PAULA FERNANDA KRELING DOMINGUES

**AVALIAÇÃO DE PASTAS ENDODÔNTICAS PARA DENTES
DECÍDUOS À BASE DE IODOFÓRMIO COM COPAÍBA OU
GUACO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE, pelo Programa Pós-graduação em Odontologia.

Orientador Prof. Dr. Edwin Fernando Ruiz Contreras

Londrina
2013

Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

D671a Domingues, Paula Fernanda Kreling.
Avaliação de pastas endodônticas para dentes decíduos à base de iodofórmio com copaiba ou guaco / Paula Fernanda Kreling Domingues. – Londrina, 2013.
49 f. : il.

Orientador: Edwim Fernando Ruiz Contreras
Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, 2013.
Inclui bibliografia.

1. Polpa dentária – Tratamento. 2. Dentes decíduos. 3. Doenças periapicais. 4. Dentes – Doenças – Tratamento homeopático. 5. Plantas medicinais. I. Contreras, Edwin Fernando Ruiz. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. III. Título.

CDU 616.314.18

PAULA FERNANDA KRELING DOMINGUES

**AVALIAÇÃO DE PASTAS ENDODÔNTICAS PARA DENTES
DECÍDUOS À BASE DE IODOFÓRMIO COM COPAÍBA OU GUACO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE, pelo Programa Pós-graduação em Odontologia

BANCA EXAMINADORA

Prof. orientador Dr. Edwin Fernando Ruiz
Contreras
UEL – Londrina – PR

Prof. Dr. Luiz Reynaldo de Figueiredo Walter
UEL – Londrina – PR

Prof^a. Dr^a. Angela Cristina Cilense Zuanon
UNESP – Araraquara –SP

Londrina, 15 de março de 2013.

Ao meu marido Wagner

Meu amor, meu melhor amigo, minha vida. Companheiro de todas as horas.

Amo você.

Aos meus pais Luiz e Cristina

Que se esforçaram de todas as formas para que estudássemos e a quem eu
devo meus princípios de vida.

A toda minha família

Que sempre torcem muito por mim

AGRADECIMENTOS

A Deus

Meu tudo, meu mestre.

Ao Prof. Dr. Edwin Fernando Ruiz Contreras

Muito mais que meu orientador, meu amigo. Sua paciência, dedicação e conhecimento me trouxeram até aqui. Também quero agradecer sua esposa Delise Pellizzaro, minha amiga para vida toda.

A Profª. Drª. Solange de Paula Ramos

Seus esforços e conhecimentos foram fundamentais para a realização deste trabalho. Professora, amiga dedicada. Obrigada por tudo.

A todos os professores do Mestrado

Exemplo profissional, de dedicação e empenho. Mestres a quem me espelho.

De maneira especial à Profª Drª Cássia Cilene Dezan Garbelini, Prof. Dr. Fábio Ito, Prof. Dr. Márcio Grama Hoepfner.

Aos professores e funcionários do Departamento de Histologia

Pelas contribuições valiosas, fundamentais para a realização deste trabalho.

Em especial ao Prof. Dr. Fábio Goulart de Andrade que foi fundamental para a finalização deste estudo.

Aos amigos do mestrado

Por compartilharem comigo esta etapa. Em especial a Maria Beatriz e ao João Paulo por tornarem as etapas difíceis, mais felizes.

Aos funcionários da Clínica de Odontologia

Fundamentais para o funcionamento do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes)

Pelo apoio financeiro importante para minha formação científica e para a realização deste trabalho.

"Há pessoas que desejam saber só por saber, e isso é curiosidade;
outras, para alcançarem fama, e isso é vaidade;
outras, para enriquecerem com a sua ciência, e isso é um negócio torpe;
outras, para serem edificadas, e isso é prudência;
outras, para edificarem os outros, e isso é caridade".

Santo Agostinho

DOMINGUES, Paula Fernanda Kreling. **Avaliação de pastas endodônticas para dentes decíduos à base de iodofórmio com copaíba ou guaco**. 2013. 49p. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

RESUMO

Essa dissertação foi dividida em dois capítulos: no **capítulo 1** avaliou-se a evolução do processo inflamatório local em resposta a presença de pastas endodônticas e; no **capítulo 2** avaliaram-se os efeitos das pastas endodônticas sobre a viabilidade de odontoblastos, células da câmara pulpar, órgão do esmalte e tecidos periapicais. Em ambos os estudos foram utilizados 60 incisivos centrais superiores direitos de ratos Wistar, machos. Os animais foram aleatoriamente divididos em 5 grupos (n=12), sendo que em 1 grupo (controle negativo) os animais não foram submetidos a pulpectomia. Nos demais grupos, após a pulpectomia os condutos foram preenchidos de acordo com o curativo intracanal selecionado para cada grupo: vaselina (controle positivo); pasta à base de iodofórmio com Rifocort® (popularmente conhecida como pasta Guedes-Pinto); pasta à base de iodofórmio com extrato de guaco e; pasta à base de iodofórmio com óleo de copaíba. Decorridos 14 dias, 6 ratos de cada grupo foram eutanasiados e submetidos ao processamento histológico. O mesmo procedimento foi realizado nos outros 6 ratos de cada grupo após 28 dias. No estudo do **capítulo 1** realizou-se fotomicroscopia das seguintes áreas: germe dentário; polpa incisal e polpa apical; camada odontoblástica próxima a incisal e; ligamento periodontal. Após a análise estatística pelos testes de Fischer e qui-quadrado ($p < 0,05$), os resultados demonstraram que a pasta à base de iodofórmio com Rifocort® manteve mais áreas de infiltrado inflamatório nos tempos avaliados; a pasta à base de extrato de guaco apresentou aumento de áreas de infiltrado inflamatório tardio e; a pasta à base de óleo de copaíba apresentou menos áreas de infiltrado inflamatório. Conclui-se que as pastas a base de iodofórmio com extratos naturais foram mais promissoras que o controle positivo e a pasta a base de iodofórmio com Rifocort®, sendo que a com óleo de copaíba apresentou a melhor atividade antiinflamatória. No estudo do **capítulo 2** a fotomicroscopia foi realizada nas seguintes áreas: região de polpa incisal e; região média das faces vestibular e lingual. Após a análise estatística pelos testes ANOVA e Tukey (dados com distribuição Normal) e Kruskal-Wallis e Dunn (dados sem distribuição Normal) ($p < 0,05$), os resultados demonstraram que a pasta à base de iodofórmio com Rifocort® comprometeu a deposição dos tecidos mineralizados tardiamente; a pasta à base de extrato de guaco não alterou a deposição de tecidos mineralizados em ambos os tempos e apresentou diminuição da espessura e vasoconstrição do ligamento periodontal tardiamente e; a pasta a base de óleo de copaíba atrasou a deposição de tecido mineralizado em ambos os tempos. Conclui-se que a pasta à base de iodofórmio com extrato de guaco foi biocompatível aos tecidos dentários, causando menores alterações em suas estruturas.

Palavras-chave: Pulpectomia. Dente decíduo. Plantas medicinais. Guaco (homeopatia). Copaífera. Iodofórmio.

DOMINGUES, Paula Fernanda Kreling. **Evaluation of endodontic folders for primary teeth-based iodoform with copaiba or guaco**. 2013. 49p. Dissertation (Master in Dental Clinic) – State University of Londrina, Londrina, 2013.

ABSTRACT

This dissertation was divided into two chapters: **chapter 1** aimed to evaluate the evolution of the local inflammatory process when using a filling paste used in pulp therapy in primary teeth and; in **chapter 2** aimed to evaluate the effects of filling paste on viability of odontoblasts, cells of the pulp chamber, enamel organ and periapical tissue. In both studies were used 60 right incisors maxillary of male wistar rats. The animals were randomly divided into five groups (n=12), being that 1 group (negative control) the animals were not submitted to endodontic procedure. In the other groups, after pulpectomy animals were assigned as follows according to canal filling material: vaseline (positive control group); iodoform-based paste with Rifocort® (Guedes-Pinto paste); iodoform with extract guaco-based paste; iodoform with copaiba oil-based paste. After 14 days, 6 animals in each group were euthanized and the pieces prepared for histomorphological analysis. The same procedure was carried out in the other 6 animals after 28 days. In **chapter 1** photomicrographs were performed of the following areas: incisal pulp and apical pulp; odontoblastic layer next to incisal and; periodontal ligament. After statistical analysis with Fisher Test and qui-square ($p < 0.05$), the results showed with the iodoform-based with Rifocort® paste maintained more inflammatory infiltrate in the evaluated periods; with extract guaco-based paste showed increased areas of inflammatory infiltrate belatedly; iodoform with copaiba oil-based paste showed minus areas of inflammatory infiltrate. Concluded that the iodoform-based paste with natural extracts were more promissory that positive control group and iodoform-based paste with Rifocort®, being that the iodoform with copaiba oil-based paste showed the best inflammatory activity. In **chapter 2** photomicrographs were performed of the following areas: incisal pulp and; medium vestibular region and lingual surface. After statistical analysis with ANOVA and Tukey's test (when a normal distribution was found) and the Kruskal-Wallis and Dunn's tests (when a not normal distribution was found) ($p < 0.05$) results showed that iodoform-based with Rifocort® paste compromised the deposition of mineralized tissues belatedly; iodoform with extract guaco-based paste did not alter the deposition of mineralized tissues in both periods and showed decreasing the thickness and vasoconstriction of periodontal ligament belatedly and; iodoform with copaiba oil-based paste delayed the deposition of mineralized tissue in both periods. Iodoform with extract guaco-based paste was biocompatible dental tissue, and caused less alteration in their structures.

Keywords: Pulpectomy. Deciduous tooth. Medicinal plants. Guaco (homeopathy). Copaifera. Iodoform.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 CAPÍTULOS	12
2.1 – CAPÍTULO 1	12
2.2 – CAPÍTULO 2	24
3 REFERÊNCIAS	41
ANEXO	44
ANEXO A – Declaração de aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais	45
ANEXO B – Fotomicrografia	46

1 INTRODUÇÃO

Dentre os aspectos biológicos do tratamento em Odontopediatria, a manutenção dos dentes decíduos no arco até a época de sua esfoliação fisiológica é fundamental para que a correta oclusão da dentição permanente obtenha êxito (GUEDES-PINTO, 2003). A perda prematura dos dentes decíduos pode ocorrer tanto pela presença de cárie dentária quanto por ocorrência de traumas (TOLEDO, 2005). Essa perda precoce pode comprometer o desenvolvimento da criança, seu crescimento esquelético facial, a oclusão correta e a qualidade estética em ambas as dentições - decídua e permanente (COX; HEMBREE; MCKNIGHT, 1978).

Apesar da importância de manter a integridade destes dentes, a infecção dos canais radiculares constitui um problema comum na dentição decídua (TAKUSHIGE et al., 2004). O tratamento endodôntico pode ser utilizado para auxiliar na manutenção dos dentes em estado não patológico até sua esfoliação fisiológica, impedir danos ao dente permanente que está em desenvolvimento e eliminar os microrganismos presentes no canal radicular evitando sua reinfecção (COX; HEMBREE; MCKNIGHT, 1978; REDDY; RAMAKRISHNA, 2007). Seu sucesso depende primordialmente de dois fatores: limpeza mecânica do conduto com instrumentais adequados e preenchimento com material biocompatível (SILVA et al., 2010) e com reabsorção semelhante a da raiz do dente decíduo (MORTAZAVI; MESBAHI, 2004).

A terapia endodôntica em dentes decíduos tem sido um dos assuntos mais complexos e controversos na Odontopediatria. Vários materiais têm sido preconizados com tal finalidade, no entanto, poucas evidências científicas suportam seguramente, a superioridade de uma medicação sobre a outra, o que resulta no interesse crescente por estudos nesta área (COSTA et al., 2008). Dentre os mais utilizados, destaca-se a pasta semi-sintética à base de iodofórmio com Rifocort® proposta por Guedes-Pinto em 1981 (GUEDES-PINTO; PAIVA; BOZZOLA, 1981).

No contexto da sociedade moderna, é crescente o interesse no uso de extratos naturais com propriedades terapêuticas em substituição a medicamentos sintéticos e semi-sintéticos (RATES, 2001). Na América do Sul, as plantas medicinais contribuem significativamente para atenção primária à saúde (HOLETZ et al., 2002). O Brasil possui uma das maiores biodiversidades do mundo, com 40.000

espécies diferentes, o que representa 20% da flora mundial (BRANDÃO et al., 2013). Na busca por um medicamento que possa vir apresentar os requisitos ideais para um material obturador para dentes decíduos, duas plantas atualmente utilizadas na medicina popular do Brasil, a copaíba e o guaco, foram escolhidas para este estudo.

O óleo de copaíba é obtido através de pequenos cortes na casca da árvore de *Copaifera L.* da espécie das Leguminosas. É conhecido popularmente e pode ser encontrado à venda em quase todas as feiras livres, mercados populares, ervanários e farmácias de produtos naturais por todo o Brasil (MACIEL et al., 2002). É um dos medicamentos populares mais utilizados no Brasil, por via oral e ação tópica para tratamento de dor de garganta; afecções pulmonares e urinárias; úlceras e feridas (CARVALHO et al., 2005; PAIVA et al., 2004). Este óleo é potencialmente importante como fonte de princípios ativos em farmacologia (VEIGA JUNIOR e PINTO, 2002; PAIVA et al., 2004), destacando-se o ácido caurenóico por sua ação antiinflamatória (PAIVA et al., 2002; CARVALHO et al., 2005). Outros autores têm demonstrado que este composto tem atividades antimicrobianas (BRAGA; SILVA, 2007; SANTOS et al., 2008; MENDONÇA; ONOFRE, 2009) e não possui propriedades citotóxicas (GOMES et al., 2007).

Guaco é o nome popular que se dá a *Mikania glomerata* Sprengel (Compositae), uma planta medicinal usada na medicina popular brasileira (FIERRO et al., 1999). Têm como principais componentes o cumarim responsável por broncodilatação, vasodilatação e relaxamento muscular (MOURA et al., 2002) e o ácido caurenóico, relacionado ao efeito antiinflamatório (SUYENAGA et al., 2002) e tratamento de doenças respiratórias na medicina popular (VILEGAS; MARCHI; LANÇAS, 1997). Além disso, outros autores têm identificado que as folhas do guaco são úteis para fins antimicrobianos sistêmicos (HOLETZ et al., 2002; DALLA NORA et al., 2010; DO AMARAL, 2003) e orais (YATSUDA et al., 2005) e propriedades antialérgicas (FIERRO et al., 1999).

Embora as plantas fitoterápicas estejam associadas com certas funções ou indicadas como tratamento para doenças, seus mecanismos de ação não foram completamente elucidados, e as doses ideais são, muitas vezes, pouco claras (YEUNG; GUBILI; CASSILETH, 2008). Baseado nisso, os objetivos destes estudos foram avaliar a biocompatibilidade, evolução do processo inflamatório local, efeitos sobre a viabilidade de odontoblastos, células da câmara pulpar, órgão do esmalte e tecidos periapicais quando da utilização das pastas endodônticas à base

de produtos naturais e semi-sintéticos.

2 CAPÍTULOS

2.1 – CAPÍTULO 1¹

Avaliação da Biocompatibilidade de Pastas à Base de Iodofórmio para Curativos Endodônticos em Ratos

Paula Fernanda Kreling²; Solange de Paula Ramos³; Fábio Goulart de Andrade³;
Sérgio Ricardo Ambrósio⁴; Edwin Fernando Ruiz Contreras⁵

Resumo: INTRODUÇÃO: dentes decíduos tratados endodonticamente devem ser preenchidos com materiais com propriedades antiinflamatórias, antimicrobianas e biocompatíveis aos tecidos dentais e periapicais. **OBJETIVO:** o objetivo deste estudo foi avaliar a evolução do processo inflamatório local em resposta a presença de pastas endodônticas à base de iodofórmio com produtos naturais e semi-sintéticos. **MATERIAIS E MÉTODOS:** foram utilizados 60 incisivos centrais superiores direitos de ratos Wistar, machos. Os animais foram aleatoriamente divididos em 5 grupos (n=12), sendo que em 1 grupo (controle negativo) os animais não foram submetidos a pulpectomia. Nos demais grupos, após a pulpectomia os condutos foram preenchidos de acordo com o curativo intracanal selecionado para cada grupo: vaselina (controle positivo); pasta à base de iodofórmio com Rifocort® (popularmente conhecida como pasta Guedes-Pinto); pasta à base de iodofórmio com extrato de guaco e; pasta à base de iodofórmio com óleo de copaíba. Decorridos 14 e 28 dias, as peças foram submetidas ao processamento histológico. Realizou-se fotomicroscopia das seguintes áreas: germe dentário; polpa incisal e polpa apical; camada odontoblástica próxima a incisal e; ligamento periodontal. A análise estatística foi realizada pelos testes de Fischer e qui-quadrado (p<0,05). **RESULTADOS:** os resultados demonstraram que a pasta à base de iodofórmio com Rifocort® manteve mais áreas de infiltrado inflamatório nos tempos avaliados; a pasta à base de extrato de guaco apresentou aumento de áreas de infiltrado inflamatório tardio e; a pasta à base de óleo de copaíba apresentou menos áreas de infiltrado inflamatório. **CONCLUSÃO:** conclui-se que as pastas à base de iodofórmio com extratos naturais foram mais promissoras que o controle positivo e a pasta à base de iodofórmio com Rifocort®, sendo que a com óleo de copaíba apresentou a melhor atividade antiinflamatória.

¹ Artigo formatado conforme as normas da revista "International Journal of Pediatric Dentistry", para submissão.

² Mestranda em Odontologia – Universidade Estadual de Londrina, Brasil

³ Professor associado ao Departamento de Histologia - Universidade Estadual de Londrina, Brasil.

⁴ Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade de Franca, Brasil.

⁵ Professor associado ao Departamento de Odontologia Restauradora - Universidade Estadual de Londrina, Brasil. Correspondência: Prof. Dr. Edwin Fernando Ruiz Contreras – Rua Pernambuco, 540. Londrina – PR. 86020-070. Telefone: (43) 3371-6750. edwin@uel.com

Summary: BACKGROUND: endodontically treated primary teeth must be filled with materials antiinflammatory, antimicrobial and biocompatible properties of dental and periodontal tissues. **AIM:** the aim of this studied was to evaluate the evolution of the local inflammatory process when filled iodoform-based paste with natural materials and semisyntetics in primary teeth. **DESIGN:** the animals were randomly divided into five groups (n=12), being that 1 group (negative control) the animals were not submitted to endodontic procedure. In the other groups, after pupectomy animals were assigned as follows according to canal filling material: vaseline (positive control group); iodoform-based paste with Rifocort® (Guedes-Pinto paste); iodoform with extract guaco-based paste; iodoform with copaiba oil-based paste. After 14 days, 6 animals in each group were euthanized and the pieces prepared for histomorphological analysis. The same procedure was carried out in the other 6 animals after 28 days. Photomicrographs were performed of the following areas: incisal pulp and apical pulp; odontoblastic layer next to incisal and; periodontal ligament. The statistical analysis was performed with Fisher Test and qui-square ($p < 0.05$). **RESULTS:** the results showed with the iodoform-based with Rifocort® paste maintained more inflammatory infiltrate in the evaluated periods; with extract guaco-based paste showed increased areas of inflammatory infiltrate less belatedly; iodoform with copaiba oil-based paste showed minus areas of inflammatory infiltrate. **CONCLUSIONS:** concluded that the iodoform-based paste with natural extracts were more promissory that positive control group and iodoform-based paste with Rifocort®, being that the iodoform with copaiba oil-based paste showed the best inflammatory activity.

Keywords: Pulpectomy. Primary teeth. Plants medicinal. Guaco (homeopaty). Fabaceae.

Introdução

Os dentes decíduos com problemas pulpares e periapicais devem ser mantidos na boca até sua esfoliação normal, uma vez que sua perda prematura pode levar a alterações indesejáveis na dentição¹. A terapia endodôntica em dentes decíduos tem sido um dos assuntos mais complexos e controversos na Odontopediatria². Vários materiais têm sido propostos para a obturação de canais radiculares em dentes decíduos, destacando-se no Brasil o uso da pasta à base de iodofórmio com Rifocort® proposta por Guedes-Pinto e cols.⁴.

Apesar da frequência de uso, as pastas existentes frequentemente causam irritação, edema e processo inflamatório nos tecidos periapicais dos dentes decíduos⁵. A biocompatibilidade do material de preenchimento é um dos mais importantes requisitos para o sucesso clínico⁶. Neste sentido, o desenvolvimento de novos materiais com propriedades mais adequadas para o tratamento endodôntico em dentes decíduos é fundamental.

Na busca por este material, optou-se pela utilização de dois medicamentos fitoterápicos, uma vez que os produtos naturais têm sido uma fonte promissora para o desenvolvimento de medicamentos⁷. A copaíba e o guaco foram escolhidos por serem plantas muito utilizadas na medicina popular brasileira. Vários estudos demonstraram que o óleo de copaíba tem ação antiinflamatória, atividade antimicrobiana e analgésica e não apresenta citotoxicidade^{8,9,10,11,12}. O extrato de guaco também demonstra ação antiinflamatória^{13,14}, antialérgica¹⁴, e eficácia antimicrobiana^{15,16,17}. Esta planta é uma fonte promissora de novos agentes antimicrobianos contra patógenos orais¹⁸.

Apesar de demonstrar atividades antiinflamatórias e não citotóxicas, ainda pouco se sabe sobre seus efeitos quando utilizados como medicamentos para preenchimento de canais radiculares. Portanto o objetivo deste estudo foi avaliar a evolução do processo inflamatório local em resposta a presença de pastas endodônticas à base de iodofórmio com produtos naturais e semi-sintéticos.

Material e método

Animais e procedimentos experimentais

Esta pesquisa teve apreciação favorável pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais da Universidade Estadual de Londrina. (Anexo A, pág 43).

Sessenta incisivos centrais superiores direitos de ratos Wistar machos, com 300 a 400 gramas foram selecionados para o estudo. Os animais foram aleatoriamente divididos em cinco grupos (n=12), sendo assim designados: 1 grupo controle negativo (G1) - onde não se realizou pulpectomia; 1 grupo controle positivo (G2) – pulpectomia + vaselina; 3 grupos experimentais – pulpectomia + pasta à base de iodofórmio com Rifocort® (G3), pulpectomia + pasta à base de iodofórmio com extrato de guaco (G4), pulpectomia + pasta à base de iodofórmio com óleo de copaíba (G5). Os animais receberam ração normocalórica para roedores (Nuvilab®, Nuvital, Campo Largo, Brasil) e água à vontade. A temperatura foi mantida em aproximadamente 25 graus Celsius. Os animais permaneceram a ciclo de luz e escuro de 12 horas e passaram por um período de 7 dias de aclimação ao Biotério Experimental, antes do início dos experimentos.

Confecção da pulpectomia

Os animais foram sedados com éter dietílico e anestesiados com injeção intraperitoneal de Francotar® (50mg/kg) (Solução de Cloridrato de Ketamina-Virbac do Brasil – São Paulo, SP, Brasil) e Virbaxyl 2%® (50mg/kg) (Cloridrato de Xylazina - Virbac do Brasil – São Paulo, SP, Brasil). Após verificação do estado de consciência do animal realizou-se profilaxia e os procedimentos propostos.

Após a desinfecção da boca com solução de iodo, sucedeu odontosecção a nível cervical com auxílio de uma broca cilíndrica diamantada (1090 – KG Sorensen – Cotia, SP, Brasil) sob-refrigeração. A polpa foi parcialmente removida com extirpa-nervos (Maillefer - Dentsply) até 1/3 de seu comprimento, sendo mantido o germe dentário que encontra-se no ápice radicular. O canal irrigado com soro fisiológico e seco com algodão estéril para auxiliar na contenção do sangramento.

Aplicação dos curativos endodônticos

Após as pulpectomias, os condutos endodônticos dos animais foram preenchidos com as pasta de escolha sendo: G2 vaselina sólida (Rioquímica, São José do Rio Preto, SP, Brasil); G3 pasta composta por 0,30 mg iodomórmio (Biodinâmica, Ibiporã, PR, Brasil), 0,1mL paramonocloranfenicol canforado (Inodon, Porto Alegre, RS, Brasil) e 0,25 mg Acetato de Prednisolona 5,0 mg/g + Rifamicina SV sódica 1,5mg/g (Rifocort® - Medley, Campinas, SP, Brasil) - conhecida como pasta Guedes-Pinto; G4 pasta teste composta por 0,30 mg iodofórmio (Biodinâmica, Ibiporã, PR, Brasil), 0,1mL paramonocloranfenicol canforado (Inodon, Porto Alegre, RS, Brasil) e 0,25 mg extrato de guaco; G5 pasta teste composta por 0,30 mg iodofórmio (Biodinâmica, Ibiporã, PR, Brasil), 0,1mL paramonocloranfenicol canforado (Inodon, Porto Alegre, RS, Brasil) e 0,25 mg óleo de copaíba (Amazon Leve – produtos Naturais, Brasil). Os ratos do grupo G1 não foram submetidos a tratamento endodôntico e serviu como parâmetro para avaliar os aspectos histológicos normais do incisivo do rato.

Selamento dos condutos radiculares

Após o preenchimento, os canais foram selados com guta-percha em bastão (Odahcam, Dentsply – York, PA, EUA) e em seguida, realizou-se

restauração com ionômero de vidro (Maxxion R, FGM - Joinville, SC, Brasil) de acordo com a recomendação do fabricante. Imediatamente após a intervenção cirúrgica, os animais receberam medicação de dose única de analgésico dipirona sódica (50mg/Kg – Novalgina®, Hoescht), via subcutânea.

Procedimentos histopatológicos

A eutanásia se deu por inalação de dose letal de éter etílico, em grupos de 6 ratos, após 14 dias e 28 dias da cirurgia. A maxila foi retirada, dissecada e cortada longitudinalmente para realizar análise histológica.

Fixação, Inclusão e Microtomia

Após a remoção, as peças foram fixadas em solução fixadora Bouin aquoso, por 24 horas. Após fixação, as peças ósseas sofreram descalcificação em solução 10% de ácido diaminotetracético (EDTA) - pH 7,2, durante 14 dias, em descalcificador a 75mA. Para inclusão, as peças foram desidratadas em álcool etílico, diafanizadas em xilol e embebidas em parafina. Os espécimes foram submetidos a microtomia para obtenção de cortes longitudinais da área correspondente ao germe dental do incisivo. Dez cortes de 12 µm seriados com 100µm de distância foram realizados para análise morfométrica.

Coloração com Hematoxilina Harris, Eosina de Lison

Lâminas de microscopia contendo os cortes de tecido foram hidratadas, coradas com hematoxilina e eosina, desidratadas em álcool etílico e xilol e montadas com lamínulas e bálsamo do Canadá. Os cortes foram analisados em microscópio de luz em aumentos de 100 e 200X.

Análises microscópicas e morfométricas

Aleatoriamente foram selecionadas cinco imagens de cada animal, sendo observadas 5 áreas diferentes (germe dentário, polpa apical, polpa incisal, camada odontoblástica próximo a incisal) em microscopia de luz em sistema de captura de imagens Moticam 2000 (Motic Co., Xiamen, China). Em todas as áreas foram analisadas a presença ou ausência de infiltrado inflamatório com auxílio do software Motic Image Plus 2.0 (Motic Co, Xiamen, China), totalizando 1500 imagens.

Análise estatística

As variáveis dicotômicas foram analisadas pelo teste de Fisher e o qui-quadrado. A diferença entre grupos e tempos foi considerada significativa quando $p < 0,05$.

Resultados

No G1, células inflamatórias foram observadas apenas na região de ligamento periodontal aos 14 e 28 dias (Tabela 1 e 2).

Aos 14 dias apenas o G2 apresentou infiltrado inflamatório na região de germe dentário. G2 e G3 apresentaram infiltrado inflamatório na região de polpa apical e incisal e ligamento periodontal. G4 e G5 apresentaram áreas de infiltrado inflamatório apenas na região de polpa incisal (Tabela 1). Em nenhum grupo foi encontrado desorganização da bainha de Hertwig, áreas de necrose nos tecidos germinativos e tecido conjuntivo pulpar.

Tabela 1 – Frequência, em porcentagem, das áreas com infiltrado inflamatório aos 14 dias.

Áreas com infiltrado inflamatório	G1 Controle negativo	G2 Controle positivo	G3 Pasta à base de iodofórmio com Rifocort®	G4 Pasta à base de iodofórmio com extrato de guaco	G5 Pasta à base de iodofórmio com óleo de copaíba
Germe dentário	0 a	24 b	14 a	7 a	0 a
Polpa na região apical	0 a	24 b	38 b	0 a	0 a
Ligamento periodontal	23 a*	56 b	76 b	16 a	16 a
Camada odontoblátia próximo a região incisal	0 a	13 a	10 a	16 a	16 a
Polpa na região incisal	0 a	96 b	83 b	56 b	60 b

Valores seguidos de letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística significativa pelos testes exato de Fisher e (*) Qui quadrado com correção de Yates ($p < 0,05$).

Aos 28 dias, G2 e G5 apresentaram áreas de infiltrado inflamatório na região de germe dentário. G4 apresentou áreas de infiltrado inflamatório na região de polpa apical e ligamento periodontal. Células inflamatórias foram observadas na camada odontoblástica próxima a região incisal no G3 e G4. Além disso, G2 e G3 ainda apresentaram áreas de infiltrado inflamatório na região da polpa apical (Tabela 2). Novamente não houveram desorganização da bainha de Hertwig, áreas de necrose nos tecidos germinativos e tecido conjuntivo pulpar.

Tabela 2 – Frequência, em porcentagem, das áreas com infiltrado inflamatório aos 28 dias.

Áreas com infiltrado inflamatório	G1 Controle negativo	G2 Controle positivo	G3 Pasta à base de iodofórmio com Rifocort®	G4 Pasta à base de iodofórmio com extrato de guaco	G5 Pasta à base de iodofórmio com óleo de copaíba
Germe dentário	0 a	24 b	16 a	0 a	32 b
Polpa na região apical	0 a	26 b	36 b	46 b	3 a
Ligamento periodontal	23* a	40 a	26 a	60 b	20 a
Camada odontoblástica próximo a região incisal	0 a	3 a	45 b	60 b 3 a 20 a 10	10 a
Polpa na região incisal	0 a	0 a	0 a	3 a	0 a

Discussão

Vários materiais têm sido propostos para aplicação como medicação intracanal e não existem evidências científicas que suportem o uso de uma medicação sobre a outra, o que resulta no interesse crescente por estudos nesta área². Uma vez que os cimentos endodônticos têm um papel importante na terapia pulpar endodôntica, é preciso conhecer as reações que podem causar sob os aspectos histológicos e os mecanismos biológicos através dos quais o material induz

reparação^{4, 19}.

A presença de células inflamatórias nos tecidos pulpare e germe dentário dos animais do grupo controle negativo, não submetidos a pulpectomia, foram observadas apenas no ligamento periodontal, fato esperado, pois a presença de células inflamatórias em poucas quantidades é comum neste tecido²⁰. A opção pelo uso da vaselina no grupo controle positivo deu-se pelo fato de ser um material inerte, sem propriedade antiinflamatória e antimicrobiana. Dessa forma pode-se obter um parâmetro de comparação da atividade antiinflamatória dos materiais testados neste estudo. Este grupo apresentou diversas áreas com infiltrado inflamatório no germe dentário, ligamento periodontal, polpa na região apical e incisal. Embora tenha sido observado várias áreas de infiltrado inflamatório no grupo controle positivo aos 14 dias, ocorreu um decréscimo das áreas de inflamação, sugerindo redução do processo inflamatório aos 28 dias.

O grupo submetido ao tratamento com pasta à base de iodofórmio com Rifocort® apresentou infiltrado inflamatório na polpa incisal e apical, ligamento periodontal aos 14 dias e a inflamação persistiu aos 28 dias na polpa apical, além de aparecer na camada odontoblástica próxima a região incisal aos 28 dias. Presença de infiltrado inflamatório em dentes de animais utilizando esta pasta, em níveis toleráveis semelhantes ao do presente estudo, também foram encontrados por outros autores que a consideraram biocompatível em tecidos pulpare e biotolerável em tecidos periapicais^{4,5,21, 22}.

O extrato de guaco e o óleo de copaíba foram utilizados na tentativa de substituir o Rifocort® utilizado na pasta à base de iodofórmio, uma vez que esse medicamento não está sendo mais comercializado no Brasil²³. Ambos componentes são plantas da medicina popular e têm se mostrado uma fonte para desenvolvimento de novas drogas antiinflamatórias⁷.

No presente estudo, a ação antiinflamatória da pasta à base de iodofórmio com extrato de guaco ficou evidente nos primeiros 14 dias, pois apresentou infiltrado inflamatório somente na polpa na região incisal. Entretanto, aos 28 dias, notou-se redução da atividade antiinflamatória desta pasta que apresentou aumento no número de áreas com infiltrado inflamatório. Suspeita-se que a associação do extrato de guaco com o iodofórmio resultou na redução tardia do potencial antiinflamatório do guaco frente à ativação da resposta inflamatória pelo iodofórmio²⁴. Além disso, variações nos mecanismos de ação de produtos naturais

podem sofrer alterações devido a produção de diferentes metabólitos¹⁶, fato que também pode ter interferido na redução tardia da atividade antiinflamatória.

O grupo onde se utilizou pasta à base de iodofórmio com óleo de copaíba apresentou a melhor atividade antiinflamatória dentre as pastas testadas, sendo encontradas áreas de processo inflamatório apenas na polpa da região incisal aos 14 dias e germe dentário aos 28 dias. No estudo de Garcia et al., 2011²⁷, o óleo de copaíba foi utilizado como veículo de pastas endodônticas à base de própolis e hidróxido de cálcio e estas foram biocompatíveis quando colocadas em contato com os tecidos subcutâneos de ratos. O presente estudo optou pelo uso do óleo de copaíba comercial por ser encontrado facilmente em farmácias e mercados no Brasil. Embora este óleo não tenha identificação das espécies botânicas e apresente diferentes padrões químicos e farmacológicos²⁵, a atividade antiinflamatória da pasta à base de iodofórmio com óleo de copaíba comercial manteve-se presente nos dois tempos estudados. Este composto “in natura” apresenta alta atividade antiinflamatória^{9,22,25, 26,27}, baseado nisso, a substituição do óleo de copaíba comercial pelo “in natura” poderia levar a resultados ainda mais promissores.

Em todos os grupos, houve a presença de moléculas pró-inflamatórias produzidas pelos odontoblastos e células pulpares após a agressão a polpa. Este fato pode promover o recrutamento de células inflamatórias, causar vasodilatação nos tecidos pulpares e edema pulpar, uma vez que o processo inflamatório é um mecanismo de defesa utilizado pelo complexo dentino-pulpar frente a agressões, sejam elas, de origem mecânica, química, térmica ou biológica, para garantir a manutenção da vitalidade do tecido²⁸.

Assim como no estudo de Luján et al., 1992²¹, foram encontradas dificuldades operacionais devido a pequena área de trabalho, limitada pelas pequenas dimensões da cavidade oral e dos dentes dos ratos, podendo não haver a completa eliminação da polpa do dente do animal. Além disso, com relação as plantas medicinais, estas podem ter seus mecanismos de ação não muito bem elucidados e as doses ideais ainda não bem estabelecidas²⁹.

Conclusão

- A pasta à base de iodofórmio com óleo de copaíba apresentou a melhor atividade antiinflamatória;

- Todas as pastas foram biotoleráveis;
- As pastas à base de iodofórmio com extratos naturais foram mais promissoras que o controle positivo e a pasta à base de iodofórmio com Rifocort®;
- Mais estudos devem ser realizados na busca de aprimorar o uso destes produtos naturais e encontrar a concentração ideal para minimizar os efeitos adversos causados pelo material de preenchimento dos canais radiculares de dentes decíduos.

Referências

1. Reddy S, Ramakrishna Y. Evaluation of antimicrobial efficacy of various root canal filling materials used in primary teeth: A microbiological study. *J Clin Pediatr Dent.* 2007;31:193-198.
2. Costa EMMB, Esmeraldo MRA, Carvalho MGF, Daniele RLDP, Pastro, MF, Silva Jr, FL. Avaliação da ação antimicrobiana da própolis e de substâncias utilizadas em endodontia sobre o *enterococcus faecalis*. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr.* 2008;8:21-25.
3. Tannure PN, Fidalgo TK, Barcelos R, Primo LG, Maia LC. Analysis of root canal treated primary incisor after trauma: Two year outcomes. *J Clin Pediatr Dent.* 2012;36:257-262.
4. Cerqueira DF, Mello-Moura AC, Santos EM, Guedes-Pinto AC. Cytotoxicity, histopathological, microbiological and clinical aspects of an endodontic iodoform-based paste used in pediatric dentistry: A review. *J Clin Pediatr Dent.* 2008;32:105-110.
5. Silva LA, Leonardo MR, Oliveira DS, Silva RA, Queiroz AM, Hernandez PG, Nelson-Filho P. Histopathological evaluation of root canal filling materials for primary teeth. *Braz Dent J.* 2010;21:38-45
6. Queiroz AM, Assed S, Consolaro A, Nelson-Filho P, Leonardo MR, Silva RA, Silva LA. Subcutaneous connective tissue response to primary root canal filling materials. *Braz Dent J.* 2011;22:203-211
7. Napimoga MH, Yatsuda R. Scientific evidence for mikania laevigata and mikania glomerata as a pharmacological tool. *J Pharm Pharmacol.* 2010;62:809-820
8. Braga MD, Silva CCM. Atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *copaífera langsdorffii* desf. Sobre *staphylococcus aureus*. *Montes Claros.* 2007;9:91-97.
9. Carvalho JC, Cascon V, Possebon LS, Morimoto MS, Cardoso LG, Kaplan MA, Gilbert B. Topical antiinflammatory and analgesic activities of *copaifera duckei* dwyer. *Phytother Res.* 2005;19:946-950.

10. Mendonça DE, Onofre SB. Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaiba – *copaifera multijuga* hayne (leguminosae). *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2009;19:277-581.
11. Santos AOS, Nakamura TU, Dias Filho BP, Veiga Junior VF, Pinto AC, Nakamura CV. Antimicrobial activity of brazilian copaiba oils obtained from different species of the copaifera genus. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2008;103:277-281.
12. Gomes NM, Rezende CM, Fontes SP, Matheus ME, Fernandes PD. Antinociceptive activity
13. Benatti BB, Campos-Junior JC, Silva-Filho VJ, Alves PM, Rodrigues IR, Uber-Bucek E, Vieira SM, Napimoga MH. Effects of a mikania laevigata extract on bone resorption and rankl expression during experimental periodontitis in rats. *J Appl Oral Sci*. 2012;20:340-346.
14. Fierro IM, da Silva AC, Lopes Cda S, de Moura RS, Barja-Fidalgo C. Studies on the anti-allergic activity of mikania glomerata. *J Ethnopharmacol*. 1999;66:19-24.
15. Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez DAG, Nakamura CV, Dias Filho BP. Screening of some plants used in the brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97:1027-1031.
16. Dalla Nora G, Pastori T, Laughinghouse HDt, Do Canto-Dorow TS, Tedesco SB. Antiproliferative and genotoxic effects of mikania glomerata (asteraceae). *Biocell*. 2010;34:95-101.
17. Do Amaral RR, Arcenio Neto F, Carvalho ES, Teixeira LA, De Araújo GL, Sharapin N, Testa B, Gnerre C, Rocha, L. Avaliação da atividade imao e antibacteriana de extratos de mikania glomerata sprengel. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2003;13:24-25.
18. Yatsuda R, Rosalen PL, Cury JA, Murata RM, Rehder VL, Melo LV, Koo H. Effects of mikania genus plants on growth and cell adherence of mutans streptococci. *J Ethnopharmacol*. 2005;97:183-189.
19. Grossman L. Antimicrobial effect of root canal cements. *J Endod*. 1980;6:594-597.
20. Fonseca PD, de Lima FM, Higashi DT, Koyama DF, de Oliveira Toginho Filho D, Dias IF, de Paula Ramos S. Effects of light emitting diode (led) therapy at 940 nm on inflammatory root resorption in rats. *Lasers Med Sci*. 2013;28:49-55.
21. Luján VAP, Fazzi R, Guedes-Pinto AC, Araújo VC. Histopatología de la pulpa de dientes de ratones. *Revista Estomatologia*. 1992;2:45-52.
22. Lima RV, Esmeraldo MR, de Carvalho MG, de Oliveira PT, de Carvalho RA, da Silva FL, Jr., de Brito Costa EM. Pulp repair after pulpotomy using different pulp capping agents: A comparative histologic analysis. *Pediatr Dent*. 2011;33:14-18.

23. BRASIL. Re nº1947, de 6 de maio de 2011. Dispõe sobre agência nacional de vigilância sanitária. . *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 9 mai. 2011.* . Disponível em:
<http://www.anvisa.gov.br/legis/suplemento/09052011_suplemento_1.pdf>.
24. Maisto AE, Erausquin J. Reacción de los tejidos periapicales del molar de la rata a las pastas de obturación, reabsorbibles. *Rev Assoc Odontol Argent* 1965;53:12-20.
25. Veiga Junior VF, Rosas EC, Carvalho MV, Henriques MG, Pinto AC. Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *copaifera cearensis huber ex ducke*, *copaifera reticulata ducke* and *copaifera multijuga hayne*--a comparative study. *J Ethnopharmacol.* 2007;112:248-254.
26. Paiva LA, Gurgel LA, Campos AR, Silveira ER, Rao VS. Attenuation of ischemia/reperfusion-induced intestinal injury by oleo-resin from *copaifera langsdorffii* in rats. *Life Sci.* 2004;75:1979-1987.
27. Garcia L, Cristiane S, Wilson M, Soraya M, Lopes RA, Monica R, de Freitas O. Biocompatibility assessment of pastes containing copaiba oilresin, propolis, and calcium hydroxide in the subcutaneous tissue of rats. *J Conserv Dent.* 2011; 14:108-112.
28. Hebling J, Ribeiro APD, Costa CAS. Relação entre materiais dentários e o complexo dentino-pulpar. *Rev Odontolol Bras Central.* 2010;18:1-9.
29. Yeung KS, Gubili J, Cassileth B. Evidence-based botanical research: Applications and challenges. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2008;22:661-670, viii.

2.2 – Capítulo 2⁶**Avaliação dos Tecidos Dentários de Ratos Submetidos a Curativos Endodônticos à Base de Iodofórmio**

Paula Fernanda Kreling⁷, João Paulo Menck Sangiugio⁷, Solange de Paula Ramos⁸,
Sérgio Ricardo Ambrósio⁹, Edwin Fernando Ruiz Contreras¹⁰

Resumo: INTRODUÇÃO: quando ocorrem alterações na polpa dos dentes decíduos o tratamento endodôntico se faz necessário, uma vez que a manutenção destes dentes na arcada dentária até sua esfoliação normal é fundamental para integridade da dentição decídua e permanente. **OBJETIVO:** o objetivo deste estudo foi avaliar a biocompatibilidade de pastas endodônticas à base de iodofórmio com produtos naturais e semi-sintéticos sobre os tecidos dentários. **MATERIAIS E MÉTODOS:** foram utilizados 60 incisivos centrais superiores direitos de ratos Wistar, machos. Os animais foram aleatoriamente divididos em 5 grupos (n=12), sendo que em 1 grupo (controle negativo) os animais não foram submetidos a pulpectomia. Nos demais grupos, após a pulpectomia os condutos foram preenchidos de acordo com o curativo intracanal selecionado para cada grupo: vaselina (controle positivo); pasta à base de iodofórmio com Rifocort® (popularmente conhecida como pasta Guedes-Pinto); pasta à base de iodofórmio com extrato de guaco e; pasta à base de iodofórmio com óleo de copaíba. Decorridos 14 e 28 dias, as peças foram submetidas ao processamento histológico. Realizou-se fotomicroscopia das seguintes áreas: região de polpa incisal, região média da face vestibular e lingual. A análise estatística foi realizada pelos testes ANOVA e Tukey (dados com distribuição Normal) e Kruskal-Wallis e Dunn (dados sem distribuição Normal) (p<0,05). **RESULTADOS:** os resultados demonstraram que a pasta à base de iodofórmio com Rifocort® comprometeu a deposição dos tecidos mineralizados tardiamente; a pasta a base de extrato de guaco não alterou a deposição de tecidos mineralizados em ambos os tempos e apresentou diminuição da espessura e vasoconstrição do ligamento periodontal tardiamente e; a pasta a base de óleo de copaíba atrasou a deposição de tecido mineralizado em ambos os tempos. **CONCLUSÃO:** conclui-se que as pastas à base de iodofórmio foram biocompatíveis aos tecidos dentários, sendo que a pasta à base de iodofórmio com extrato de guaco causou menores alterações em suas estruturas.

⁶ Artigo formatado conforme as normas da revista "International Journal of Pediatric Dentistry", para submissão.

⁷ Mestrandos em Odontologia – Universidade Estadual de Londrina, Brasil.

⁸ Professora associada ao Departamento de Histologia - Universidade Estadual de Londrina, Brasil.

⁹ Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade de Franca, Brasil

¹⁰ Professor associado ao Departamento de Odontologia Restauradora - Universidade Estadual de Londrina, Brasil. Correspondência: Prof. Dr. Edwin Fernando Ruiz Contreras – Rua Pernambuco, 540. Londrina – PR. 86020-070. Telefone: (043) 3371-6750. edwin@uel.com

Summary: BACKGROUND: when changes occur on pulpal and periapical in the primary teeth endodontic treatment is necessary once which your maintenance until their normal exfoliation is important for primary teeth and the future dentition. **AIM:** the aim of this study was evaluate the biocompatibility of iodoform-based paste with natural extracts and semisintetycs in dentals tissues. **DESIGN:** the animals were randomly divided into five groups (n=12), being that 1 group (negative control) the animals were not submitted to endodontic procedure. In the other groups, after pupectomy animals were assigned as follows according to canal filling material: vaseline (positive control group); iodoform-based paste with Rifocort® (Guedes-Pinto paste); iodoform with extract guaco-based paste; iodoform with copaiba oil-based paste. After 14 days, 6 animals in each group were euthanized and the pieces prepared for histomorphological analysis. The same procedure was carried out in the other 6 animals after 28 days. Photomicrographs were performed of the following areas: incisal pulp and; median vestibular region and lingual surface. After statistical analysis with ANOVA and Tukey`s test (when a normal distribution was found) and the Kruskal-Wallis and Dunn`s tests (when a not normal distribution was found) (p<0.05). **RESULTS:** the results showed that iodoform-based with Rifocort® paste compromised the deposition of mineralized tissues belatedly; iodoform with extract guaco-based paste did not alter the deposition of mineralized tissues in both time and showed decreasing the thickness and vasoconstriction of periodontal ligament belatedly and; iodoform with copaiba oil-based paste delayed the deposition of mineralized tissue in both periods. **CONCLUSIONS:** iodoform-based pastes were biocompatible dental tissue, and iodoform with extract guaco-based paste caused less alteration in their structures.

Keywords: Pulpectom. Primary teeth. Plants medicinal. Guaco (homeopaty). Fabaceae. Copaifera.

Introdução

A manutenção da integridade da dentição decídua até a sua esfoliação natural é vital para o desenvolvimento do paciente pediátrico¹. Dentes com canais radiculares infectados são um problema comum na dentição decídua² e as terapias endodônticas ainda são controversas³. Pastas a base de óxido de zinco, hidróxido de cálcio ou iodofórmio têm sido propostas para esta finalidade, destacando-se no Brasil o uso da pasta à base de iodofórmio com Rifocort®, conhecida como pasta Guedes-Pinto⁴.

O conhecimento da toxicidade, das reações histológicas nos tecidos periapicais, e a capacidade de induzir reparação tecidual das pastas utilizadas para preenchimento dos canais radiculares de dentes decíduos são requisitos importantes na sua indicação⁴. As pastas utilizadas atualmente deixam a desejar nestes requisitos⁵, o que sugere novos estudos na tentativa de encontrar um material que possa ser ideal na terapia endodôntica em dentes decíduos.

Algumas plantas são conhecidas como medicamentos, pois contém princípios ativos com considerável potencial terapêutico⁶, podendo ser uma ótima alternativa aos medicamentos sintéticos. Neste contexto, duas plantas muito utilizadas na variada e rica medicina popular brasileira: copaíba e guaco foram escolhidas. O óleo de copaíba é extraído na região da Amazônia da *Copaífera langsdorffi*, sendo rico em ácido caurenóico, um diperteno capaz de exercer atividade antiinflamatórias, hipotensoras e diuréticos⁷. Também tem demonstrado atividade antimicrobiana e analgésica, além de não apresenta citotoxicidade^{8, 9, 10, 11, 12}. O extrato de guaco obtido a partir da *Mikania laevigata* e *M. glomerata* é rico em cumarim, ácido cumárico e ácido caurenóico que são principais responsáveis pelas suas propriedades medicinais¹³, destacando-se ação antiinflamatória^{14,15}, antialérgica¹⁵, e eficácia antimicrobiana^{16,17,18}. Esta planta é uma fonte promissora de novos agentes antimicrobianos contra patógenos orais¹⁹.

Apesar destas substâncias demonstrarem propriedades terapêuticas interessantes, pouco se sabe sobre seus efeitos nos tecidos dentais, portanto o objetivo deste estudo foi avaliar a biocompatibilidade de pastas endodônticas à base de iodofórmio com produtos naturais e semi-sintéticos sobre os tecidos dentários.

Materiais e métodos

Animais e procedimentos experimentais

Esta pesquisa teve apreciação favorável pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais da Universidade Estadual de Londrina. (anexo 1- pág 43).

Sessenta incisivos centrais superiores direitos de ratos Wistar machos, com 300 a 400 gramas foram selecionados para o estudo. Os animais foram aleatoriamente divididos em cinco grupos (n=12), sendo assim designados: 1 grupo controle negativo (G1) - onde não se realizou pulpectomia; 1 grupo controle positivo (G2) – pulpectomia + vaselina; 3 grupos experimentais – pulpectomia + pasta à base de iodofórmio com Rifocort® (G3), pulpectomia + pasta à base de iodofórmio com extrato de guaco (G4), pulpectomia + pasta à base de iodofórmio com óleo de copaíba (G5). Os animais receberam ração normocalórica para roedores (Nuvilab®, Nuvital, Campo Largo, Brasil) e água à vontade. A temperatura foi mantida em aproximadamente 25 graus Celsius. Os animais permaneceram a ciclo de luz e escuro de 12 horas e passaram por um período de 7 dias de

aclimatação ao Biotério Experimental, antes do início dos experimentos.

Confecção da pulpectomia

Os animais foram sedados com éter dietílico e anestesiados com injeção intraperitoneal de Francotar® (50mg/kg) (Solução de Cloridrato de Ketamina-Virbac do Brasil – São Paulo, SP, Brasil) e Virbaxyl 2%® (50mg/kg) (Cloridrato de Xylazina - Virbac do Brasil – São Paulo, SP, Brasil). Após verificação do estado de consciência do animal realizou-se profilaxia e os procedimentos propostos.

Após a desinfecção da boca com solução de iodo, sucedeu odontosecção a nível cervical com auxílio de uma broca cilíndrica diamantada (1090 – KG Sorensen – Cotia, SP, Brasil) sob-refrigeração. A polpa foi parcialmente removida com extirpa-nervos (Maillefer - Dentsply) até 1/3 de seu comprimento, sendo mantido o germe dentário que encontra-se no ápice radicular. O canal irrigado com soro fisiológico e seco com algodão estéril para auxiliar na contenção do sangramento.

Aplicação dos curativos endodônticos

Após as pulpectomias, os condutos endodônticos dos animais foram preenchidos com as pasta de escolha sendo: G2 vaselina sólida (Rioquímica, São José do Rio Preto, SP, Brasil); G3 pasta composta por 0,30 mg iodomórmio (Biodinâmica, Ibiporã, PR, Brasil), 0,1mL paramonocloranfenicol canforado (Inodon, Porto Alegre, RS, Brasil) e 0,25 mg Acetato de Prednisolona 5,0 mg/g + Rifamicina SV sódica 1,5mg/g (Rifocort® - Medley, Campinas, SP, Brasil) - conhecida como pasta Guedes-Pinto; G4 pasta teste composta por 0,30 mg iodofórmio (Biodinâmica, Ibiporã, PR, Brasil), 0,1mL paramonocloranfenicol canforado (Inodon, Porto Alegre, RS, Brasil) e 0,25 mg extrato de guaco; G5 pasta teste composta por 0,30 mg iodofórmio (Biodinâmica, Ibiporã, PR, Brasil), 0,1mL paramonocloranfenicol canforado (Inodon, Porto Alegre, RS, Brasil) e 0,25 mg óleo de copaíba (Amazon Leve-produtos Naturais, Brasil). Os ratos do grupo G1 não foram submetidos a tratamento endodôntico e serviu como parâmetro para avaliar os aspectos histológicos normais do incisivo do rato.

Selamento dos condutos radiculares

Após o preenchimento, os canais foram selados com guta-percha em bastão (Odahcam, Dentsply – York, PA, EUA) e em seguida, realizou-se restauração com ionômero de vidro (Maxxion R, FGM - Joinville, SC, Brasil) de acordo com a recomendação do fabricante. Imediatamente após a intervenção cirúrgica, os animais receberam medicação de dose única de analgésico dipirona sódica (50mg/Kg – Novalgina®, Hoescht), via subcutânea.

Procedimentos histopatológicos

A eutanásia se deu por inalação de dose letal de éter etílico, em grupos de 6 ratos, após 14 dias e 28 dias da cirurgia. A maxila foi retirada, dissecada e cortada longitudinalmente para realizar análise histológica.

Fixação, Inclusão e Microtomia

Após a remoção, as peças foram fixadas em solução fixadora Bouin aquoso, por 24 horas. Após fixação, as peças ósseas sofreram descalcificação em solução 10% de ácido diaminotetracético (EDTA) - pH 7,2, durante 14 dias, em descalcificador a 75mA. Para inclusão, as peças foram desidratadas em álcool etílico, diafanizadas em xilol e embebidas em parafina. Os espécimes foram submetidos a microtomia para obtenção de cortes longitudinais da área correspondente ao germe dental do incisivo. Dez cortes de 12 µm seriados com 100µm de distância foram realizados para análise morfométrica.

Coloração com Hematoxilina Harris, Eosina de Lison

Lâminas de microscopia contendo os cortes de tecido foram hidratadas, coradas com hematoxilina e eosina, desidratadas em álcool etílico e xilol e montadas com lamínulas e bálsamo do Canadá. Os cortes foram analisados em microscópio de luz em aumentos de 100 e 200X.

Análises microscópicas e morfométricas

Aleatoriamente foram selecionadas cinco imagens de cada animal, sendo observadas 3 áreas diferentes (região de polpa incisal, região média da face

vestibular e da lingual) em microscopia de luz em sistema de captura de imagens Moticom 2000 (Motic Co., Xiamen, China). Na região de polpa incisal foram analisados o diâmetro dos vasos. Na face vestibular: camada ameloblástica, espessura de esmalte, espessura de dentina, espessura da camada odontoblástica e diâmetro dos vasos da camada odontoblástica. Na face lingual: diâmetro dos vasos do ligamento periodontal, espessura do ligamento periodontal, espessura de dentina, espessura da camada odontoblástica e diâmetro dos vasos da camada odontoblástica. Essas imagens foram analisadas com auxílio do software Motic Image Plus 2.0 (Motic Co, Xiamen, China), totalizando 600 imagens.

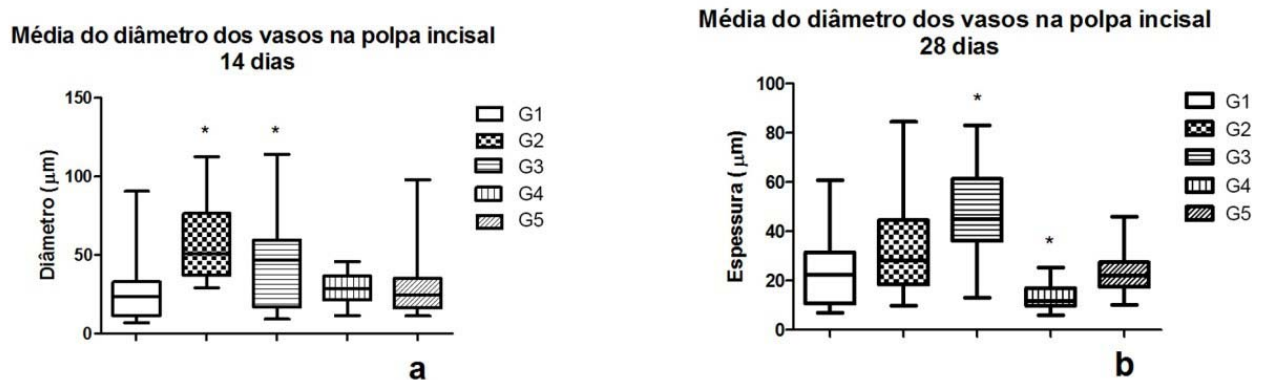
Análise estatística

As variáveis numéricas foram expressas em média (desvio padrão), quando o teste de Kolmogorov-Smirnov indicou uma distribuição Normal dos dados e por mediana (quartis) quando os dados não apresentaram distribuição Normal. Para análise dos dados com distribuição Normal (paramétricos) foram utilizados os testes ANOVA, seguido do teste de Tukey e para análise dos dados sem distribuição Normal (não-paramétricos) foram utilizados os testes de Kruskal-Wallis e de Dunn em cada período analisado. A diferença entre grupos e tempos foi considerada significativa quando $p < 0,05$.

Resultados

Foi observada vasodilatação da polpa incisal aos 14 dias nos grupos G2 e G3 (figura 1a) e aos 28 dias permaneceu somente no G3 (figura 1b). No entanto, o G4 apresentou uma redução dos diâmetros médios dos vasos em relação ao grupo G1 aos 28 dias (figura 1b).

Figura 1 – Média do diâmetro de vasos da região de polpa incisal após 14 dias (a) e após 28 dias (b).

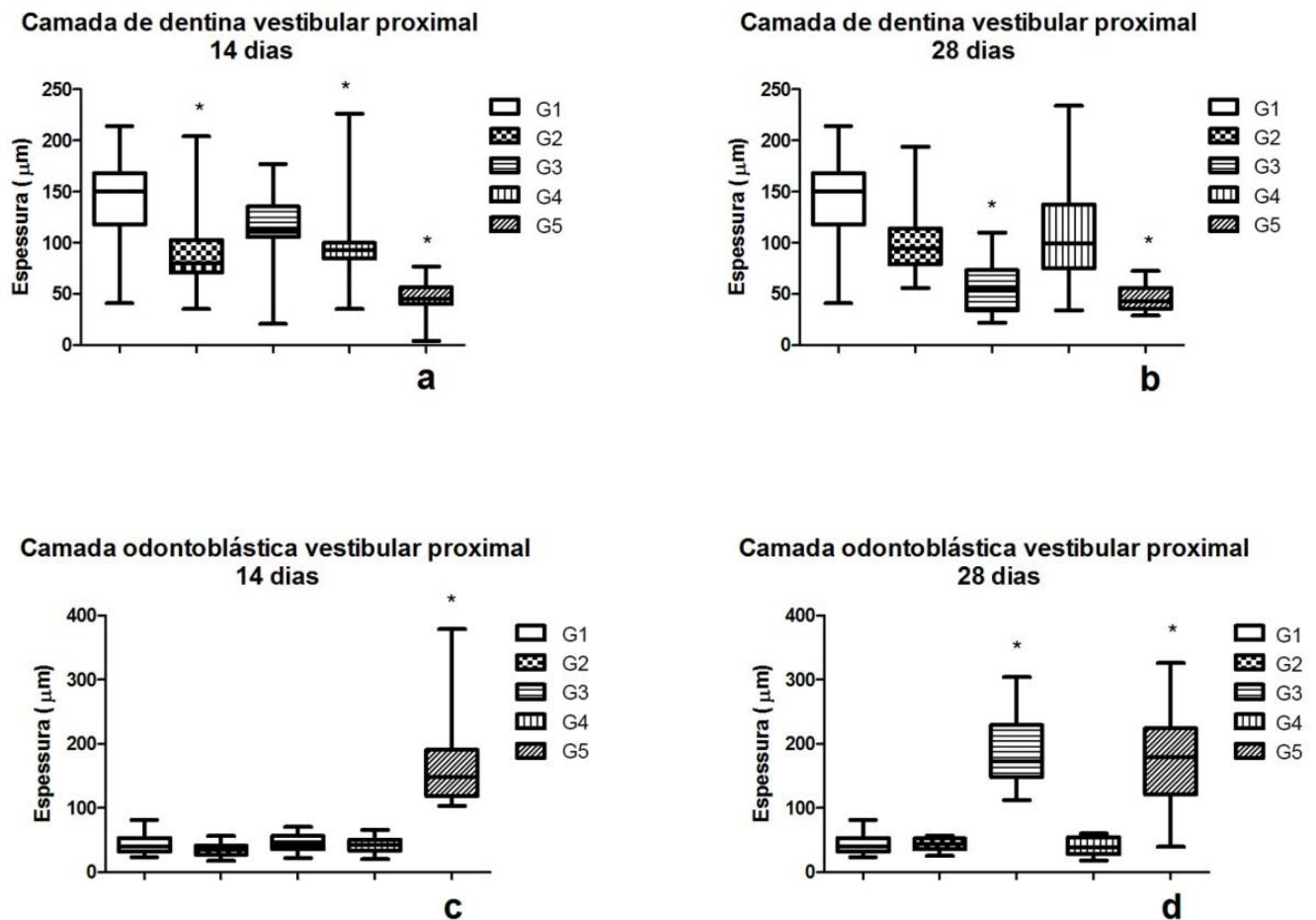


O Box representa quartis de 25 a 75%, as barras verticais representam a dispersão de 1 a 99% dos valores e a barra horizontal representa a mediana. * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle negativo, teste de Dunn.

Aos 14 dias, no G2, G4 e G5 houve redução da espessura na camada de dentina vestibular proximal ao germe dentário (figura 2a) e aumento da camada odontoblástica vestibular proximal no G5 (figura 2c). Aos 28 dias, G3 e G5 apresentaram redução da espessura nesta camada de dentina (figura 2b) e aumento da espessura nesta camada odontoblástica (figura 2d).

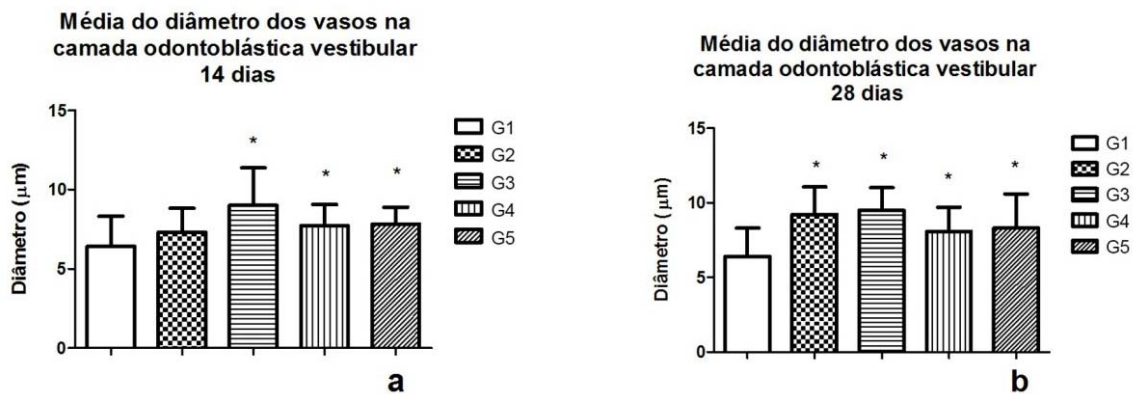
Nos grupos G3, G4 e G5 houve vasodilatação dos capilares da camada odontoblástica vestibular aos 14 dias (figura 3a). Aos 28 dias, a vasodilatação esteve presente em todos os grupos, exceto no G1 (figura 3b).

Figura 2 – Dentina vestibular proximal ao germe dentário e camada odontoblástica vestibular após 14 dias (a, c) e após 28 dias (b, d).



O box representa quartis de 25 a 75%, as barras verticais representam a dispersão de 1 a 99% dos valores e a barra horizontal representa a mediana. * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle negativo, teste de Dunn.

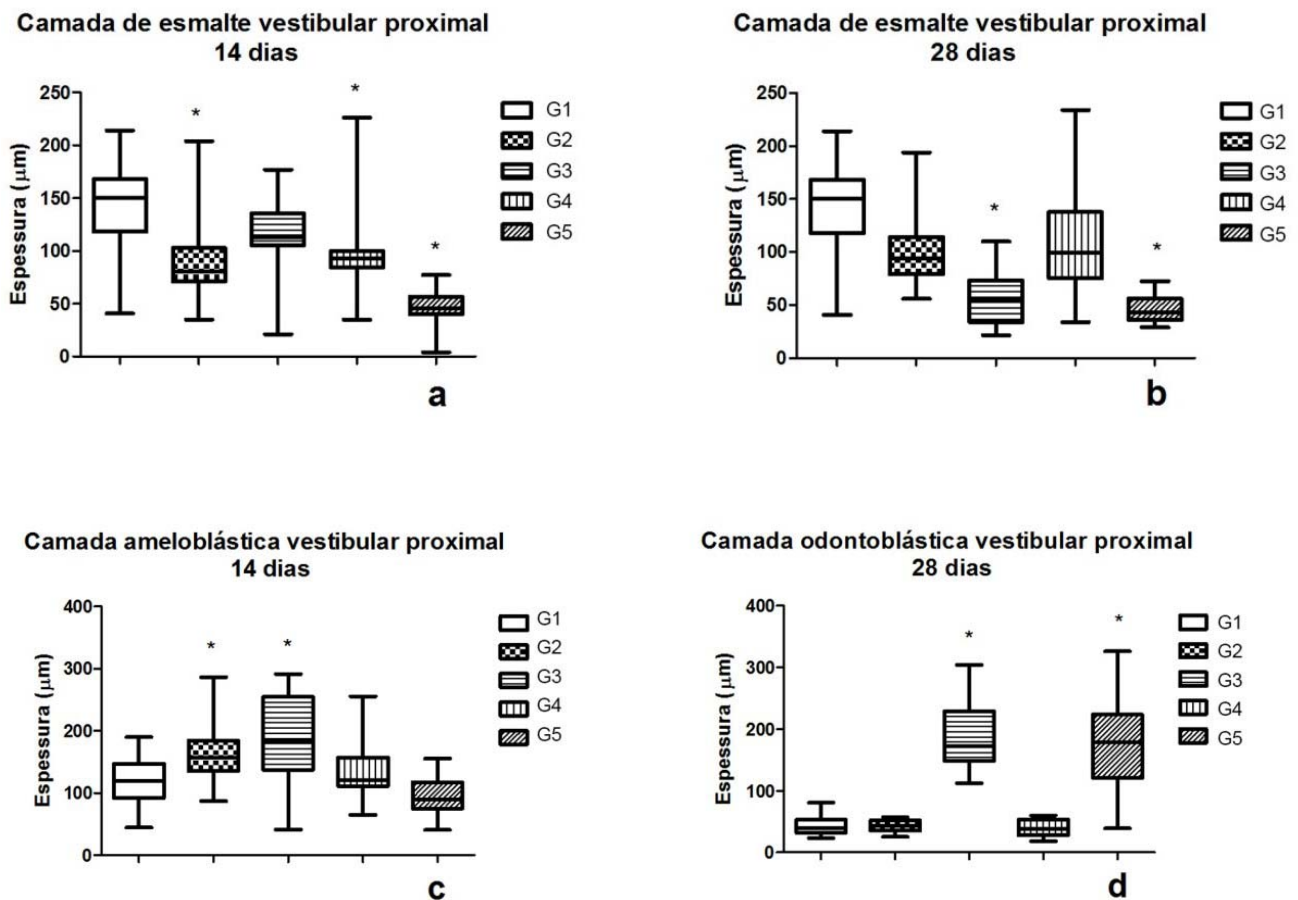
Figura 3 – Média do diâmetro dos vasos na camada odontoblástica da face vestibular proximal ao germe dentário, após 14 dias (a) e após 28 dias (b).



média e desvio padrão. * $p < 0,05$, comparado ao grupo controle negativo, teste de Tukey.

Em relação à deposição do esmalte na região vestibular proximal ao germe dentário, houve redução na espessura do esmalte no G2, G4 e G5 (figura 4a) e aumento da espessura da camada amelobástica vestibular proximal ao germe dentário no G2 e G3, aos 14 dias (figura 4c). Aos 28 dias, G3 e G5 apresentaram redução na espessura da camada de esmalte vestibular (figura 4b) e G2 e G4 aumento na camada ameloblástica vestibular (figura 4d).

Figura 4 – Camada de esmalte vestibular proximal ao germe dentário e camada ameloblástica vestibular proximal ao germe dentário, após 14 dias (a, c) e após 28 dias (b, d).

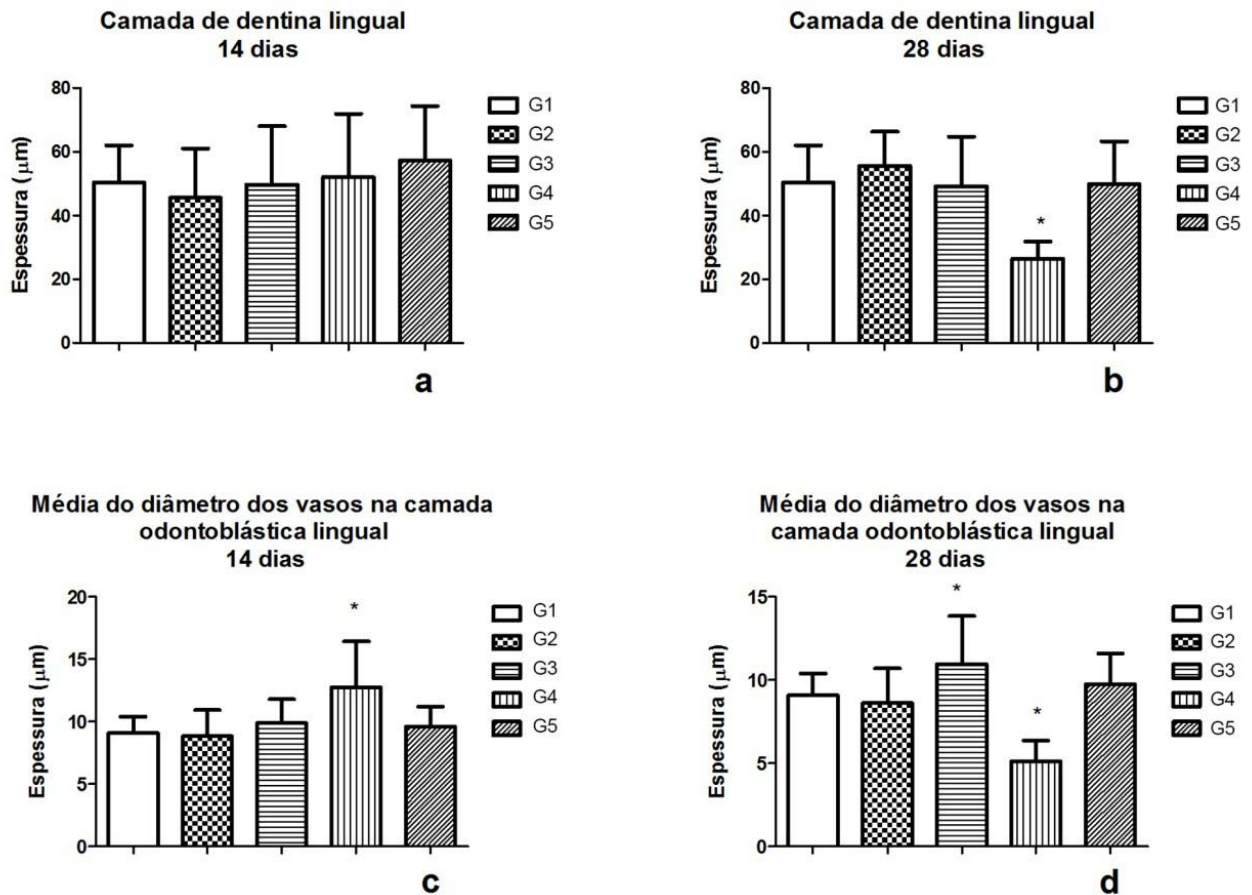


O Box representa quartis de 25 a 75%, as barras verticais representam a dispersão de 1 a 99% dos valores e a barra horizontal representa a mediana. * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle negativo, teste de Dunn.

Na face lingual, não foi encontrado alteração na deposição de dentina em nenhum dos grupos aos 14 dias (figura 5a), somente vasodilatação na camada odontoblástica no G4 (figura 5c) e aumento na espessura da camada odontoblástica no G5 (figura 6a). Houve atraso na deposição de dentina e

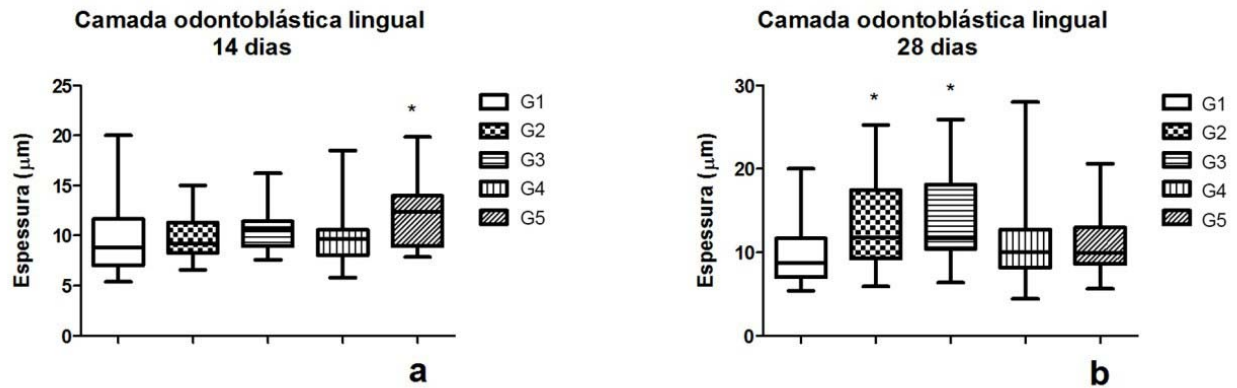
vasoconstricção na camada odontoblástica nesta face no G4 aos 28 dias (figura 5b e 5d, respectivamente) e vasodilatação no G3 (figura 5d). Por outro lado, no G2 e G3 houve aumento da espessura da camada odontoblástica (figura 6b).

Figura 5 – Camada de dentina lingual e média do diâmetro dos vasos da camada odontoblástica lingual, após 14 dias (a,c) e após 28 dias (b,d).



As barras representam a média e desvio padrão. * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle negativo, teste de Tukey.

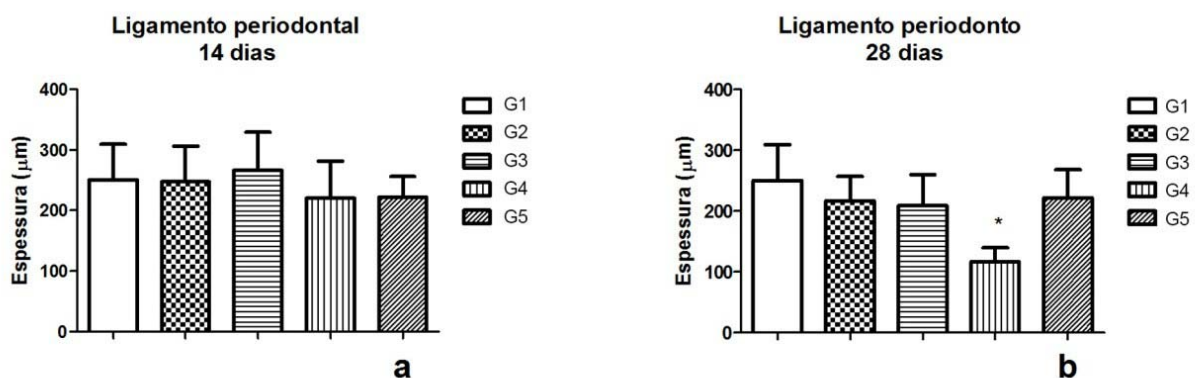
Figura 6 – Camada odontoblástica lingual na região média, após 14 dias (a) e após 28 dias (b).

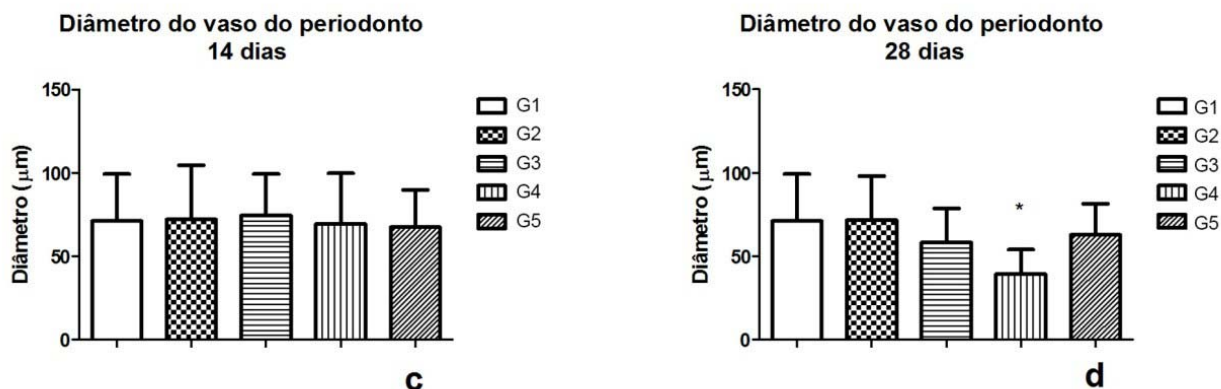


O box representa quartis de 25 a 75%, as barras verticais representam a dispersão de 1 a 99% dos valores e a barra horizontal representa a mediana. * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle negativo, teste de Dunn

Não foram encontradas alterações no ligamento periodontal e no calibre dos vasos periodontais no período de 14 dias em nenhum grupo comparado a G1 (figura 7a e c, respectivamente). Entretanto, ocorreu redução da espessura do ligamento periodontal e vasoconstricção no periodonto no G4 aos 28 dias (figura 7b e d, respectivamente).

Figura 7 – Ligamento periodontal e diâmetro do vaso do periodonto na face lingual média, após 14 dias (a, c) e após 28 dias (b, d).





As barras representam a média e desvio padrão. * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle negativo, teste de Tukey.

Discussão

Vários materiais têm sido propostos para aplicação como medicação intracanal e não existem evidências científicas que suportem o uso de uma medicação sobre a outra, o que resulta no interesse crescente por estudos nesta área³. O extrato de guaco e o óleo de copaíba foram utilizados na tentativa de substituir o Rifocort® utilizado na pasta iodoformada, uma vez que esse medicamento não está sendo mais comercializado no Brasil²⁰. Estudos utilizando compostos extraídos de plantas medicinais com atividade antiinflamatória (ácido paquímico) demonstram que estes produtos têm potencial para estimular a síntese de matriz por odontoblastos²¹. Além disso, o principal componente do guaco, o cumarim, apresenta importante ação inflamatória, inibindo a permeabilidade vascular e a migração de células inflamatórias²².

A presença de moléculas pró-inflamatórias produzidas pelos odontoblastos e células pulpares após a agressão a polpa pode promover o recrutamento de células inflamatórias e a vasodilatação dos tecidos pulpares e o edema pulpar, uma vez que o processo inflamatório é um mecanismo de defesa utilizado pelo complexo dentino-pulpar frente a agressões, para garantir a manutenção da vitalidade do tecido²³. Na presença de uma resposta inflamatória, os odontoblastos diminuem a produção de matriz orgânica, reduzindo a expressão de colágeno do tipo I e sialofosfoproteína dentinária, os principais componentes da matriz dentinária^{23, 24}. Por isso, a preservação dos odontoblastos é fundamental para a manutenção da integridade biológica e física do complexo dentino-pulpar²³. Este

fator pode ter contribuído para o atraso na deposição de dentina e esmalte, observada aos 14 dias nos grupos: controle positivo, pasta à base de iodofórmio com extrato de guaco e pasta à base de iodofórmio com óleo de copaíba e; aos 28 dias no grupo à base de iodofórmio com Rifcort® e grupo à base de iodofórmio com óleo de copaíba (Figuras 2, 4, 5 e 6). No entanto, pode haver reparo da dentina nos dias subsequentes ao dano celular quando da presença de resposta inflamatória inicial, o que pode acarretar aumento da síntese de matriz²⁵.

No período de 28 dias no grupo com pasta à base de iodofórmio com guaco parece ter ocorrido um restabelecimento da síntese de matriz orgânica de dentina, uma vez que ocorreu aumento na espessura da camada de dentina vestibular (Figura 2b) e aumento do diâmetro médio dos capilares na camada odontoblástica (Figura 3b). Nos grupos preenchidos com pasta à base de iodofórmio com Rifocort® ou óleo de copaíba suspeita-se que seja necessário um tempo maior de recuperação, pois os resultados mostraram aumento de odontoblastos neste período (Figura 2d), sem, no entanto ainda ter havido restabelecimento da espessura de dentina vestibular (Figura 2b). O aumento da relação citoplasma/núcleo e a alteração do diâmetro dos vasos capilares da camada odontoblástica (de capilares contínuos para sinusoidais) estão associados ao aumento da atividade metabólica e síntese de matriz extracelular de dentina por odontoblastos²⁶.

A pasta à base de extrato de guaco não interferiu na deposição dos tecidos mineralizados, mas aumentou a camada ameloblástica aos 28 dias (Figura 4d), sugerindo aumento da atividade metabólica dessas células. Na face lingual, houve diminuição da espessura de dentina (Figura 5b) e diminuição dos vasos da camada odontoblástica lingual (Figura 5d). Foi o único grupo a apresentar alterações periodontais, com constrição do periodonto e de seus vasos (Figura 7), sugerindo que este medicamento extravasou para estes tecidos. Estes resultados diferem dos estudos de Moura et al., 2002²⁷, cujo extrato de guaco apresentou atividade vasodilatadora. Considerando a atividade antagonista de receptores alfa-1 adrenérgicos do cumarim, o resultado esperado em caso de extravasamento para o periodonto era a vasodilatação. Suspeita-se que outro componente da pasta teste possa ter ação vasoconstritora mais potente que a ação vasodilatadora do cumarim.

Os grupos submetidos ao tratamento com a pasta à base de iodofórmio com Rifocort® ou óleo de copaíba apresentaram resultados similares

com atraso em sua deposição tanto de dentina vestibular (Figura 2b) quanto de esmalte aos 28 dias (Figura 4b), além de ter havido aumento da camada odontoblástica (Figura 2d), sugerindo aumento de suas atividades. Também ocorreu aumento da vasos capilares da camada odontoblástica vestibular em 14 e 28 dias (Figura 3). Na face lingual, houve aumento da camada odontoblástica.

Com relação à deposição dentinária, o grupo tratado com pasta à base de iodofórmio com óleo de copaíba apresentou diminuição desta camada, com aumento da camada odontoblástica (Figura 2) e aumento do vaso capilar na camada odontoblástica aos 14 e 28 dias (Figura 3). Esses resultados sugerem que este medicamento atrasou a deposição de dentina, assim como do esmalte, que também teve uma diminuição em 14 e 28 dias (Figura 4 a,b). Lima et al., 2011²⁸ não notou alteração na deposição dos tecidos mineralizados na utilização deste óleo. Na camada odontoblástica lingual houve aumento da espessura apenas aos 14 dias e não foram encontradas alterações no ligamento periodontal.

Assim como no estudo de Lujan, et al., 1992²⁹, foram encontradas dificuldades operacionais devido a pequena área de trabalho, limitada pelas pequenas dimensões da cavidade oral e dos dentes dos ratos, podendo não haver a completa eliminação da polpa do dente do animal. Além disso, com relação as plantas medicinais, estas podem ter seus mecanismos de ação não muito bem elucidados e as doses ideais ainda não estejam claras³⁰.

Conclusão

- As pastas à base de produtos naturais e semi-sintéticos testadas, apesar de apresentarem algumas reações adversas, mostraram-se biotoleráveis, pois não ocorreu necrose em nenhum dos tecidos avaliados.

- A pasta à base de iodofórmio com extrato de guaco causou as menores alterações às estruturas dentárias analisadas.

- Mais estudos devem ser realizados na busca de aprimorar o uso destes produtos naturais e encontrar a concentração ideal para minimizar os efeitos adversos causados pelo material de preenchimento dos canais radiculares de dentes decíduos.

Referências

1. Cox ST, Jr., Hembree JH, Jr., McKnight JP. The bactericidal potential of various endodontic materials for primary teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1978;45:947-954.
2. Takushige T, Cruz EV, Asgor Moral A, Hoshino E. Endodontic treatment of primary teeth using a combination of antibacterial drugs. *Int Endod J.* 2004;37:132-138.
3. Costa EMMB, Esmeraldo MRA, Carvalho MGF, Daniel RLDP, Pastro MF, Silva Jr FL. Avaliação da ação antimicrobiana da própolis e de substâncias utilizadas em endodontia sobre o *enterococcus faecalis*. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr.* 2008;8:21-25.
4. Cerqueira DF, Mello-Moura AC, Santos EM, Guedes-Pinto AC. Cytotoxicity, histopathological, microbiological and clinical aspects of an endodontic iodoform-based paste used in pediatric dentistry: A review. *J Clin Pediatr Dent.* 2008;32:105-110.
5. Kubota K, Golden BE, Penugonda B. Root canal filling materials for primary teeth: A review of the literature. *ASDC J Dent Child.* 1992;59:225-227.
6. Napimoga MH, Yatsuda R. Scientific evidence for *mikania laevigata* and *mikania glomerata* as a pharmacological tool. *J Pharm Pharmacol.* 2010;62:809-820.
7. Cavalcanti BC, Costa-Lotufo LV, Moraes MO, Burbano RR, Silveira ER, Cunha KM, Rao VS, Moura DJ, Rosa RM, Henriques JA, Pessoa C. Genotoxicity evaluation of kaurenoic acid, a bioactive diterpenoid present in copaiba oil. *Food Chem Toxicol.* 2006;44:388-392.
8. Braga MD, Silva CCM. Atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *copaífera langsdorffii* desf. Sobre *staphylococcus aureus*. *Montes Claros.* 2007;9:91-97.
9. Carvalho JC, Cascon V, Possebon LS, Morimoto MS, Cardoso LG, Kaplan MA, Gilbert B. Topical antiinflammatory and analgesic activities of *copaifera duckyi*. *Phytother Res.* 2005;19:946-950.
10. Mendonça DE, Onofre SB. Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaiba – *copaifera multijuga* hayne (leguminosae). *Brazilian Journal of Pharmacognosy.* 2009;19:277-581.
11. Santos AO, Nakamura TU, Dias Filho BP, Veiga Junior VF, Pinto AC, Nakamura CV. Antimicrobial activity of brazilian copaiba oils obtained from different species of the *copaifera* genus. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2008;103:277-281.
12. Gomes NM, Rezende CM, Fontes SP, Matheus ME, Fernandes PD. Antinociceptive activity of amazonian copaiba oils. *J Ethnopharmacol.* 2007;109:486-492.

13. Gasparetto JC, de Francisco TM, Campos FR, Pontarolo R. Development and validation of two methods based on high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determining 1,2-benzopyrone, dihydrocoumarin, o-coumaric acid, syringaldehyde and kaurenoic acid in guaco extracts and pharmaceutical preparations. *J Sep Sci*. 2011;34:740-748.
14. Benatti BB, Campos-Junior JC, Silva-Filho VJ, Alves PM, Rodrigues IR, Uber-Bucek E, Vieira SM, Napimoga MH. Effects of a mikania laevigata extract on bone resorption and rankl expression during experimental periodontitis in rats. *J Appl Oral Sci*. 2012;20:340-346.
15. Fierro IM, da Silva AC, Lopes Cda S, de Moura RS, Barja-Fidalgo C. Studies on the anti-allergic activity of mikania glomerata. *J Ethnopharmacol*. 1999;66:19-24.
16. Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez DAG, Nakamura CV, Dias Filho BP. Screening of some plants used in the brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97:1027-1031.
17. Dalla Nora G, Pastori T, Laughinghouse HDt, Do Canto-Dorow TS, Tedesco SB. Antiproliferative and genotoxic effects of mikania glomerata (asteraceae). *Biocell*. 2010;34:95-101.
18. Do Amaral RR, Arcenio Neto F, Carvalho ES, Teixeira LA, De Araújo GL, Sharapin N, Testa B, Gnerre C, Rocha L. Avaliação da atividade imao e antibacteriana de extratos de mikania glomerata sprengel. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2003;13:24-25
19. Yatsuda R, Rosalen PL, Cury JA, Murata RM, Rehder VL, Melo LV, Koo H. Effects of mikania genus plants on growth and cell adherence of mutans streptococci. *J Ethnopharmacol*. 2005;97:183-189.
20. BRASIL. Re nº1947, de 6 de maio de 2011. Dispõe sobre agência nacional de vigilância sanitária. . *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 9 mai. 2011*. . Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/suplemento/09052011_suplemento_1.pdf>.
21. Lee YH, Lee NH, Bhattarai G, Kim GE, Lee IK, Yun BS, Hwang PH, Yi HK. Anti-inflammatory effect of pachymic acid promotes odontoblastic differentiation via ho-1 in dental pulp cells. *Oral Dis*. 2012.
22. Alves CF, Alves VB, de Assis IP, Clemente-Napimoga JT, Uber-Bucek E, Dal-Secco D, Cunha FQ, Rehder VL, Napimoga MH. Anti-inflammatory activity and possible mechanism of extract from mikania laevigata in carrageenan-induced peritonitis. *J Pharm Pharmacol*. 2009;61:1097-1104.
23. Hebling J, Ribeiro APD, Costa AS. Relação entre materiais dentários e o complexo dentino-pulpar. *Rev Odontol Bras Central*. 2010;18:1-9.
24. Durand SH, Flacher V, Romeas A, Carrouel F, Colomb E, Vincent C, Magloire H, Couble ML, Bleicher F, Staquet MJ, Lebecque S, Farges JC. Lipoteichoic acid

- increases tlr and functional chemokine expression while reducing dentin formation in in vitro differentiated human odontoblasts. *J Immunol.* 2006;176:2880-2887.
25. Goldberg M, Lacerda-Pinheiro S, Jegat N, Six N, Septier D, Priam F, Bonnefoix M, Tompkins K, Chardin H, Denbesten P, Veis A, Poliard A. The impact of bioactive molecules to stimulate tooth repair and regeneration as part of restorative dentistry. *Dent Clin North Am.* 2006;50:277-298, x.
 26. Yu C, Abbott PV. An overview of the dental pulp: Its functions and responses to injury. *Aust Dent J.* 2007;52:S4-16.
 27. Moura RS, Costa SS, Jansen JM, Silva CA, Lopes CS, Bernardo-Filho M, Silva VN, Criddle DN, Portela BN, Rubenich LMS, Araújo RG, Carvalho LCRM. Bronchodilator activity of mikania glomerata sprengel on human bronchi and guinea-pig trachea. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 2002;54:249-256.
 28. Lima RV, Esmeraldo MR, de Carvalho MG, de Oliveira PT, de Carvalho RA, da Silva FL, Jr., de Brito Costa EM. Pulp repair after pulpotomy using different pulp capping agents: A comparative histologic analysis. *Pediatr Dent.* 2011;33:14-18.
 29. Luján VAP, Fazzi R, Guedes-Pinto AC, Araújo VC. Histopatología de la pulpa de dientes de ratones. *Revista Estomatología.* 1992;2:45-52.
 30. Yeung KS, Gubili J, Cassileth B. Evidence-based botanical research: Applications and challenges. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2008;22:661-670, viii.

REFERÊNCIAS

- BRAGA, M. D.; SILVA, C. C. M. Atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *Copaifera langsdorffii* Desf. sobre *Staphylococcus aureus*. **Montes Claros**, v. 9, n. 1 – jan./jun. 2007.
- BRANDÃO, M. D.; COSENZA, G. P.; PEREIRA, F. L.; VASCONCELOS, A. S.; FAGG, C. W. Changes in the trade in native medicinal plants in Brazilian Public market. **Environ Monit Assess**, v. 16, jan. 2013.
- CARVALHO, J. C. T.; CASCON, V.; POSSEBON, L. S.; MORIMOTO, M. S. S.; CARDOSO, L. G. V.; KAPLAN, M. A. C.; GILBERT, B. Topical Antiinflammatory and Analgesic Activities of *Copaifera duckei* Dwyer. **Phototherapy research**, v. 19, n. 11, p. 946-50, nov. 2005.
- COSTA, E. M. M. B.; ESMERALDO, M. R. A.; CARVALHO, M. G. F.; DANIEL, R. L. D. P.; PASTRO, M. F.; SILVA JUNIOR, F. L. Avaliação da ação antimicrobiana da própolis e de substâncias utilizadas em endodontia sobre o enterococcus faecalis. **Pesq. Bras. Odontoped. Clín. Integr.**, v. 8, n. 1, p. 21-25, jan./abr., 2008.
- COX, S. T.; HEMBREE, J. H.; MCKNIGHT, J. P. The bactericidal potential of various endodontic materials for primary teeth. **Oral Surg**. v. 45, n. 6, p. 947-954, jun.1978.
- DALLA NORA, G.; PASTORI, T.; LAUGHINGHOUSE, H. D.; DO CANTO-DOROW, T. S.; TEDESCO, S. B. Antiproliferative and genotoxic effects of *Mikania glomerata* (Asteraceae). **Biocell**, v. 34, n. 3, p. 95-101, dec. 2010.
- DO AMARAL, R. R.; ARGENIO NETO, F.; CARVALHO, E. S.; TEIXEIRA, L. A.; DE ARAÚJO, G. L.; SHARAPIN, N.; TESTA, B.; GNERRE, C.; ROCHA, L. Avaliação da atividade IMAO e antibacteriana de extratos de *Mikania glomerata* Sprengel. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 13, p. 24-27, 2003.
- FIERRO, I. M.; DA SILVA, A. C.; LOPES, C. S.; DE MOURA, R. S.; BARJA-FIDALGO, C. Studies on the Anti-Allergic Activity of *Mikania Glomerata*. **Journal of Ethnopharmacol**. v. 66, n. 1, p. 19-24, 1999.
- GOMES, N. M.; REZENDE, C. M.; FONTES, S. P.; MATHEUS, M. E.; FERNANDES, P. D. Antinociceptive activity of Amazonian Copaiba oils. **J. Ethnopharmacol.**, v. 109, n. 3, p. 486-492, feb. 2007.
- GUEDES-PINTO, A.C.; PAIVA, J. G.; BOZZOLA, J. R. Tratamento endodôntico de dentes decíduos com polpa mortificada. **Rev Assoc Paul Cir Dent**. v. 35, n. 3, p. 240-245, 1981.
- GUEDES-PINTO, A. C. **Odontopediatria**. 7. ed. São Paulo: Editora Santos, 2003.
- HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. P.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. Screening of Some Plants Used in the Brazilian Folk Medicine for the Treatment of Infectious Diseases. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v. 97, n. 7, p. 1027-1031, out. 2002.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR, V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quim. Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MENDONÇA, D. E.; ONOFRE, S. B. Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaiba – *Copaifera multijuga* Hayne (Leguminosae). **Braz. Journal of Pharm.** v. 19, n. 2B, p. 577-581, abr./jun., 2009.

MORTAZAVI, M.; MESBAHI, M. Comparison of zinc oxide and eugenol, and Vitapex for root canal treatment of necrotic primary teeth. **Int. J. Paediatr. Dent.**, v. 14, n. 6, p. 417-424, nov. 2004.

MOURA, R. S.; COSTA, S. S.; JANSEN, J. M.; SILVA, C. A.; LOPES, C. S.; BERNARDO-FILHO, M.; SILVA, N. V.; CRIDDLE, D. N.; PORTELA, L. M. S.; RUBENICH, L. M. S.; ARAÚJO, R. G.; CARVALHO, L. C. R. M. Broncodilator activity of *Mikania Glomerata* Sprengel on human bronchi and guinea-pig trachea. **J Pharmacy and Pharmacology**. v. 54, p. 249-56, set. 2001.

PAIVA, L. A. F.; GURGEL, L. A.; CAMPOS, A. R.; SILVEIRA, E. R. Attenuation of ischemia/reperfusion-induced intestinal injury by oleo-resin from *Copaifera langsdorffii* in rats. **Life Science**. v. 3, n. 75, p. 1979-1987, mai. 2004.

RATES, S. M. K.; Plants as source of drugs. **Toxicon**. v. 39, p. 603-613, 2001.

REDDY, S.; RAMAKRISHNA, Y. Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Various Root Canal Filling Materials Used in Primary Teeth: A Microbiological Study. **J Clin Paediatr Dent**. v. 3, n. 31, p. 193-198, 2007.

SANTOS, O. S.; NAKAMURA, T. U.; FILHO, B. P. D.; VEIGA JR, V. F.; PINTO, A. C.; NAKAMURA, C. V. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v. 103, n. 3, p. 277-281, may., 2008.

SILVA, L. A. B.; LEONARDO, M. R.; OLIVEIRA, D. S. B.; SILVA, R. A. B.; QUEIROZ, A. M.; HERNÁNDEZ, P. G.; NELSON-FILHO, P. Histopathological Evaluation of Root Canal Filling Materials for Primary Teeth. **Braz. Dent J**. v. 1, n. 21, p. 38-45, 2010.

SUYENAGA, E. S.; RECHE, E.; FARIAS, F. M.; SCHAPOVAL, E. E. S.; CHAVES, C. G. M.; HENRIQUES, A. T. Antiinflammatory Investigation of Some Species of *Mikania*. **Phytoterapy Research**. v. 16, p. 519-523, 2002.

TAKUSHIGE, T.; CRUZ, E. V.; MORAL, A. A.; HOSHINO, E. Endodontic treatment of primary teeth using a combination of antibacterial drugs. **Int. Endod. J.**, v. 37, n. 2, p. 132-138, feb. 2004.

TOLEDO, A. O. **Odontopediatria**: fundamentos para a prática clínica. 3. ed. São Paulo: Premier, 2005.

VEIGA JR, V. F.; PINTO, A. C. This review details the history, chemistry and pharmacology of the *Copaifera* L. genus (Leguminosae - Caesalpinoideae), including copaiba oils. **Quim. Nova**. v. 25, n. 2. p. 273-286, 2002.

VILEGAS, J. H. Y.; MARCHI, E.; LANÇAS, F. M. Extraction of Low-Polarity Compounds (with Emphasis on Coumarin and Karenoic Acid) from *Mikania Glomerata* ("Guaco") Leaves. **Phytochemical Analysis**. v. 8, p. 266-70, 1997.

YATSUDA, R.; ROSALEN, P. L.; CURY, J. A.; MURATA, R. M.; REHDER, V. L.; MELO, L. V.; KOO, H. Effects of *Mikania* Genus plants on Growth and cell Adherence of *Mutans Streptococci*. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 97, p. 183-189, jan. 2005.

YEUNG, K. S.; GUBILI, J.; CASSILETH, B. Evidence-Based Botanical research: applications and challenges. **Hematology/Oncology Clinics of North America**. v. 22, p. 661-670, 2008.

ANEXO

ANEXO A

Declaração de aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais



**Universidade
Estadual de Londrina**

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OF. CIRC. CEUA Nº 143/12

Londrina, 30 de Maio de 2012

Prezado Pesquisador,

A CEUA/UEL, reunido em 29 de abril de 2012, avaliou o projeto de pesquisa intitulado "**Avaliação da biocompatibilidade de pastas a base de copaíba ou de guaco para curativos endodônticos em modelo experimental de ratos**", registrado sob o processo CEUA nº 4509.2012.34, pesquisa do Centro de Ciências da Saúde, desenvolvido sob sua responsabilidade. Esclarecidos os aspectos metodológicos solicitados, o projeto está **aprovado** para execução entendendo-se que os princípios éticos postulados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal estão respeitados.

Serão utilizados 48 ratos Wistar machos, pesando 350 a 500 g, distribuídos em 8 grupos de 6 animais. Neste projeto será avaliada a biocompatibilidade do óleo de copaíba e do guaco em pastas endodônticas, a fim de verificar o efeito das pastas sobre a viabilidade de odontoblastos, células da câmara pulpar, órgão do esmalte, tecidos periapicais e avaliar possível toxicidade hepática, cardíaca, renal, em órgãos reprodutores do esmalte e tecidos periapicais. Para isto os animais serão submetidos à pulpectomia, na qual será extirpada a polpa dos dentes, colocada as diferentes pastas em cada grupo e em seguida os dentes serão selados com ionômero de vidro. Após 14 dias e 28 dias da cirurgia, os animais serão sacrificados por inalação de éter etílico em excesso e amostras de sangue serão coletadas para análise de hemograma, proteína C reativa, cálcio, fosfatase alcalina, ALT, AST, creatinina e CK-NAC. Também serão coletados maxila, fígado, rim, testículos, coração e cérebro e pesados para análise histológica em busca de desorganização tecidual, infiltração de células inflamatórias, formação de dentina reparadora e penetração bacteriana. Os experimentos estão previstos para serem desenvolvidos em 15 meses após sua aprovação no CEUA-UEL.

Cumpra orientar que caso pretendam-se quaisquer alterações no protocolo experimental aprovado, deve-se submeter o novo protocolo à apreciação do CEUA/UEL anteriormente à execução das modificações.

Sem mais para o momento, subscrevo-me.

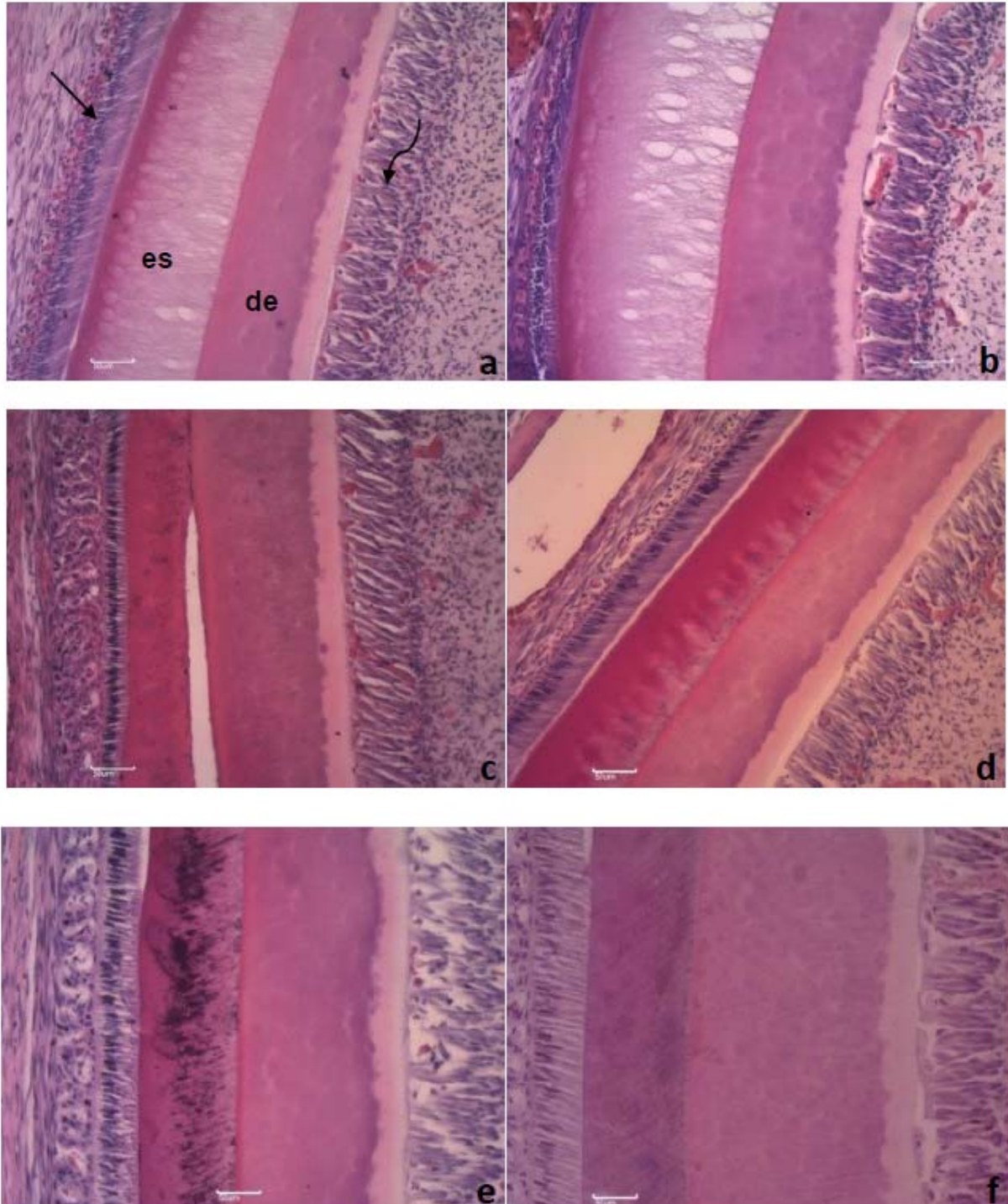
Cordialmente,

Waldiceu Ap. Verri Junior
Prof. Dr. Waldiceu Aparecido Verri Junior
Coordenador da CEUA/UEL.

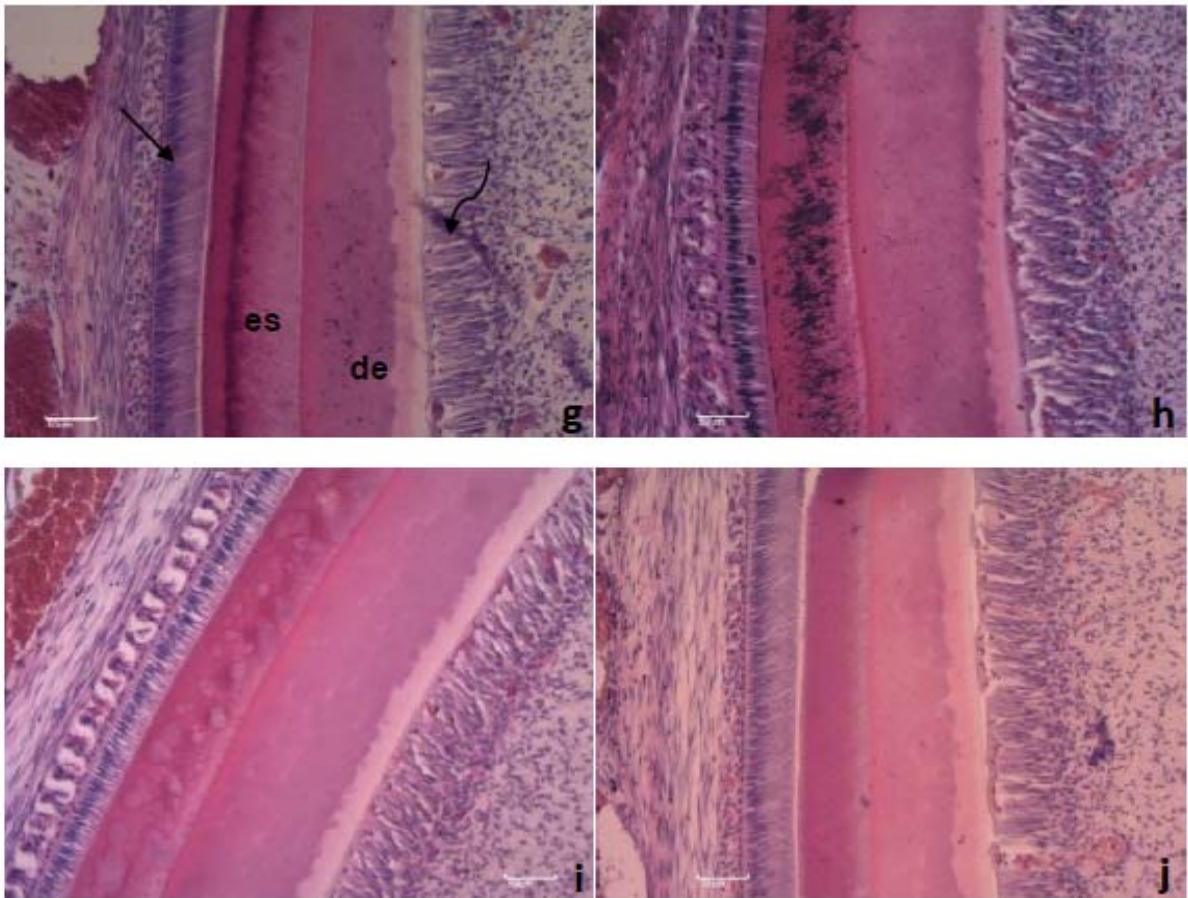
Hmo. Sr.
Prof. Dr. Edwin Fernando Ruiz Contreras
Coordenador do Projeto
Departamento de Odontologia
Centro de Ciências da Saúde

Com cópia para Sr^a Egle Maria de Sousa (Chefe da DCA/PROPPG) e Prof. Luiz Carlos Juliani (Diretor do Biotério Central da UEL).

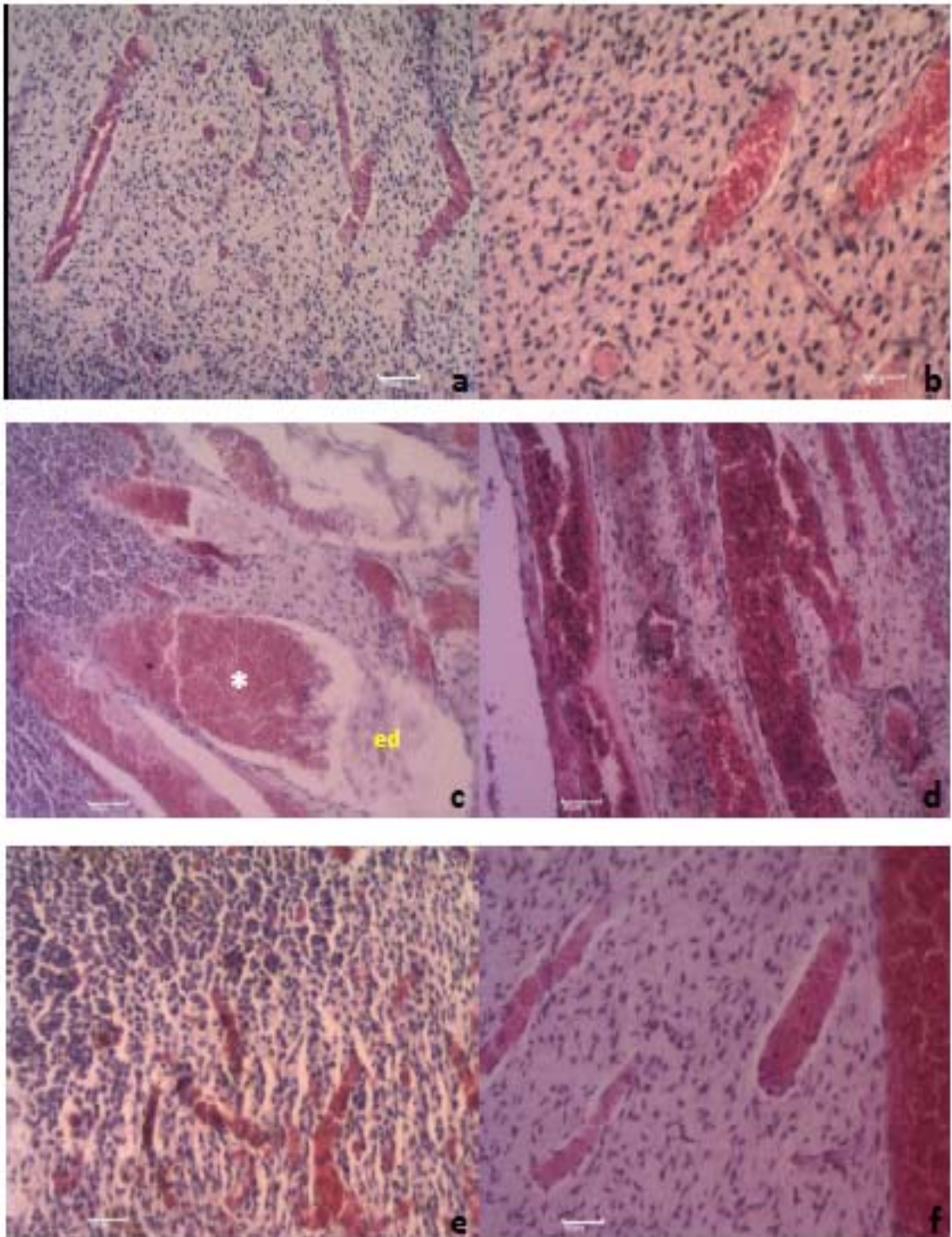
ANEXO B
Fotomicrografia



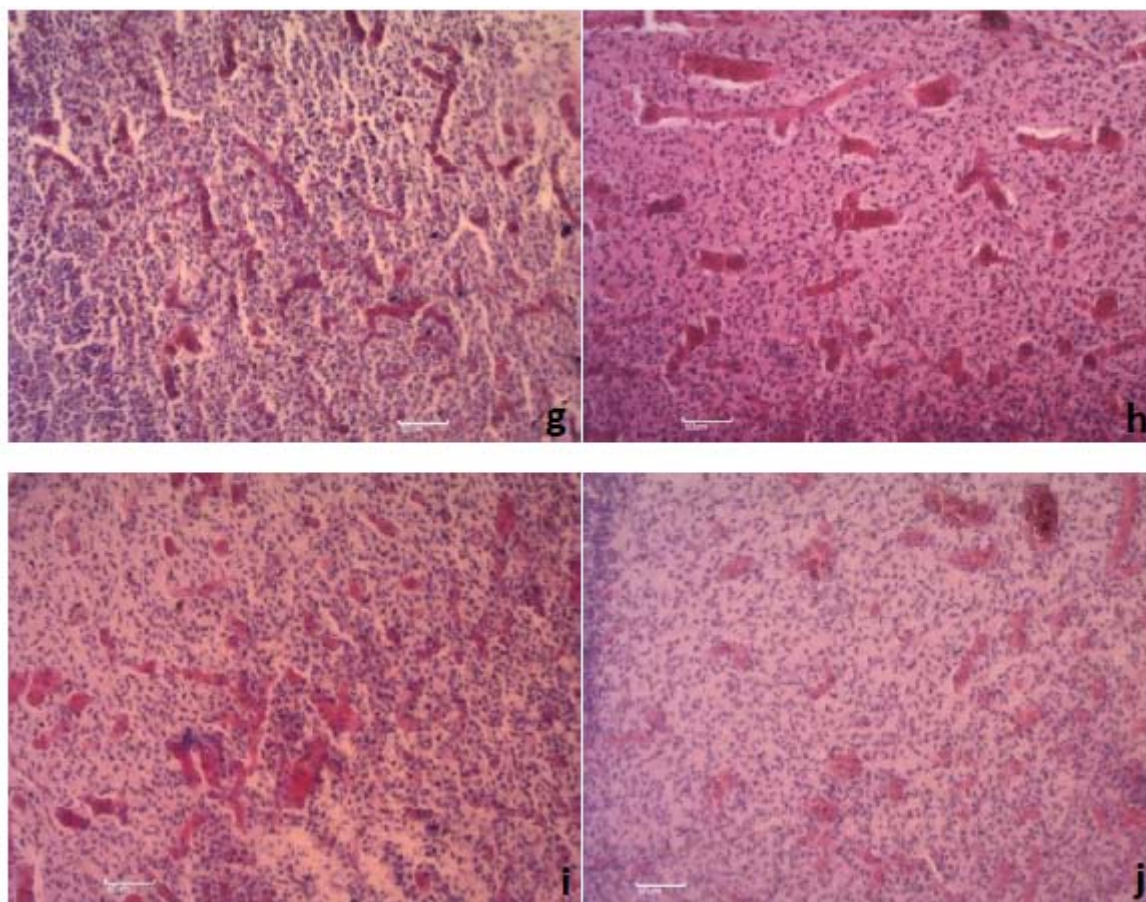
Anexo 2. Fotomicrografia da região vestibular média de incisivos de ratos Wistar submetidos a tratamento endodôntico. Controle negativo, animais não submetidos a tratamento endodôntico (a, b). Controle positivo, animais submetidos a tratamento endodôntico com vaselina aos 14 dias (c) e aos 28 dias (d). Animais submetidos a tratamento endodôntico com pasta à base de iodofórmio com Rifocort® aos 14 dias (e) e aos 28 dias (f). Camada de ameloblastos (→), camada de esmalte (es), camada de dentina (de), camada de odontoblastos (↪). Aumento de 100x. Coloração de Hematoxilina e Eosina.



Anexo 3. Fotomicrografia da região vestibular média de incisivos de ratos Wistar submetidos a tratamento endodôntico. Animais submetidos a tratamento endodôntico com pasta à base de iodofórmio com extrato de guaco aos 14 dias (g) e aos 28 dias (h). Animais submetidos a tratamento endodôntico com pasta à base de iodofórmio com óleo de copaíba aos 14 dias (i) e aos 28 dias (j). Camada de ameloblastos (→), camada de esmalte (es), camada de dentina (de), camada de odontoblastos (↪). Aumento de 100x. Coloração de Hematoxilina e Eosina.



Anexo 4: Fotomicrografia da região da polpa incisal de incisivos de ratos Wistar submetidos a tratamento endodôntico. Controle negativo, animais não submetidos a tratamento endodôntico (a, b). Controle positivo, animais submetidos a tratamento endodôntico com vaselina aos 14 dias (c) e aos 28 dias (d). Animais submetidos a tratamento endodôntico com basta à base de iodofórmio com Rifocort® aos 14 dias (e) e aos 28 dias (f). Vasodilatação (*), áreas de edema (ed). Aumento de 100x. Coloração de Hematoxilina e Eosina.



Anexo 5: Fotomicrografia da região da polpa incisal de incisivos de ratos Wistar submetidos a tratamento endodôntico. Animais submetidos a tratamento endodôntico com pasta à base de iodofórmio com extrato de guaco aos 14 dias (g) e aos 28 dias (h). Animais submetidos a tratamento endodôntico com pasta à base de iodofórmio com óleo de copaíba aos 14 dias (i) e aos 28 dias. Vasodilatação (*), áreas de edema (ed). Aumento de 100x. Coloração de Hematoxilina e Eosina.