



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

JULIANA DOS SANTOS PROENÇA

**AVALIAÇÃO DE PASTAS ENDODÔNTICAS PARA DENTES
DECÍDUOS À BASE DE EXTRATO DE GUACO E DE ÁCIDO
CAURENÓICO**

JULIANA DOS SANTOS PROENÇA

**AVALIAÇÃO DE PASTAS ENDODÔNTICAS PARA DENTES
DECÍDUOS À BASE DE EXTRATO DE GUACO E DE ÁCIDO
CAURENÓICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Edwin Fernando Ruiz Contreras

Londrina
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Proença, Juliana dos Santos.

Avaliação de pastas endodônticas para dentes decíduos à base de extrato de guaco e de ácido caurenóico / Juliana dos Santos Proença. - Londrina, 2016.
41 f. : il.

Orientador: Edwin Fernando Ruiz Contreras.

Coorientador: Solange de Paula Ramos.

Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, 2016.
Inclui bibliografia.

1. Pulpectomia - Teses. 2. Dente decíduo - Teses. 3. Inflamação - Teses. 4. Plantas medicinais - Teses. I. Contreras, Edwin Fernando Ruiz. II. Ramos, Solange de Paula. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. IV. Título.

JULIANA DOS SANTOS PROENÇA

**AVALIAÇÃO DE PASTAS ENDODÔNTICAS PARA DENTES
DECÍDUOS À BASE DE EXTRATO DE GUACO E DE ÁCIDO
CAURENÓICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE em Odontologia.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Orientador Dr. Edwin Fernando Ruiz
Contreras
Universidade Estadual de Londrina

Profa. Dra. Cássia Cilene Dezan Garbelini
Universidade Estadual de Londrina

Prof. Dr. Fausto Medeiros Mendes
Universidade de São Paulo

Londrina, 26 de fevereiro de 2016.

A Deus

Que está sempre ao meu lado e me abençoa em todos os momentos da minha vida.

Aos meus pais Maiza e Hamilton e a minha irmã Mariana

Que nunca deixaram de acreditar em mim, sendo sempre meu suporte e meu bem
mais precioso.

Ao meu namorado Diogo

Que me acompanhou e me apoiou em todos os momentos.

A minha família

Que sempre torce por mim.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Edwin Fernando Ruiz Contreras

Por ter sido, além de orientador, um amigo por quem tenho muito respeito e admiração. Obrigada por todos os anos de paciência, convivência e por todo aprendizado que me proporcionou.

À Prof^a. Dr^a. Solange de Paula Ramos

Seu conhecimento e sua dedicação foram fundamentais para a conclusão deste trabalho. Obrigada pelo acolhimento e amizade.

Aos professores do Mestrado

Pelos anos de convivência e por terem me proporcionado um grande crescimento pessoal e profissional. Agradeço de maneira especial à Prof^a. Dr^a. Cássia Cilene Dezan Garbelini e ao Prof. Dr. Márcio Grama Hoepfner.

Aos amigos do Mestrado

Pelo companheirismo e por todos os momentos que passamos juntos. Em especial a Adrieli Burey, Valéria Lima Avelar e Regis Jhonatan Brachtvogel por compartilharem comigo todos os momentos, tornando-os sempre mais felizes. A Janaina Corazza Montero pela ajuda durante o experimento.

Aos professores, graduandos e pós-graduandos da Fazenda Escola e do Hospital Veterinário

Pelas contribuições durante os cuidados com os animais e os procedimentos experimentais, fundamentais para o desenvolvimento desta pesquisa. Em especial a Camila Constantino, Francisco Fernandes Júnior, Prof. Dr. Edson Luis de Azambuja Ribeiro e Prof. Dr. Guilherme Schiess Cardoso.

Aos funcionários da Clínica Odontológica Universitária

Fundamentais para o funcionamento do Mestrado e da Graduação.

À Universidade Estadual de Londrina

Por ter sido minha segunda casa durante sete anos e por me proporcionar todos os meios para o desenvolvimento deste trabalho.

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

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

A todos que não citei de forma exposta, mas a quem com carinho e respeito guardo em meu coração.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

Arthur Schopenhauer

PROENÇA, Juliana dos Santos. **Avaliação de pastas endodônticas para dentes decíduos à base de extrato de guaco e de ácido caurenóico**. 2016. 41 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

RESUMO

Dentes decíduos com alterações pulpare irreversíveis podem requerer a realização de pulpectomia, na qual se busca fundamentalmente a extirpação da polpa e a obturação dos canais radiculares. As pastas endodônticas atuais apresentam algumas limitações biológicas para o tratamento de dentes decíduos. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a biocompatibilidade de pastas endodônticas contendo extrato de guaco ou ácido caurenóico sobre o dente decíduo e germe do dente permanente. Vinte e seis incisivos centrais inferiores, direito e esquerdo, de carneiros foram divididos aleatoriamente em 4 grupos: controle negativo (nenhum procedimento foi realizado), controle positivo (pulpectomia + vaselina), extrato de guaco (pulpectomia + pasta com extrato de guaco) e ácido caurenóico (pulpectomia + pasta com ácido caurenóico). Os animais foram sedados e anestesiados. Os incisivos foram radiografados e aleatoriamente submetidos à pulpectomia, curativo endodôntico com uma das pastas em teste ou vaselina e selados com guta percha e resina composta. Após 28 dias, os animais foram reexaminados radiograficamente, abatidos e coletou-se a região anterior da mandíbula, dividindo-a em hemiarcadas para o processamento histológico. No dente decíduo foi avaliada a presença de reabsorção radicular fisiológica no ápice, o ligamento periodontal, o número de osteoclastos e a polpa remanescente. No germe do dente permanente avaliou-se: esmalte, epitélio do esmalte, dentina, camada odontoblástica, polpa e folículo dentário. Realizou-se a análise estatística pelo teste de Kruskal-Wallis e teste exato de Fisher ($p < 0,05$). Inflamação na região periapical do dente decíduo, além de necrose e abscesso periapicais foram observados com maior frequência no controle positivo (vaselina); em nenhum grupo de estudo encontraram-se alterações no exame radiográfico, na reabsorção fisiológica do dente decíduo e na atividade de osteoclastos. Na análise do germe do dente permanente, observou-se um maior grau de desorganização e vacuolização do epitélio do esmalte no grupo extrato de guaco, entretanto sem alterações na formação do esmalte. Áreas de infiltrado inflamatório foram menos frequentes nos grupos contendo o extrato de guaco e o ácido caurenóico. Concluiu-se que as pastas endodônticas contendo compostos naturais são biocompatíveis ao dente decíduo e ao germe do dente permanente, podendo se tornar opções para a obturação de canais radiculares de dentes decíduos após pulpectomias.

Palavras-chave: Pulpectomia. Dente Decíduo. Inflamação. Plantas Medicinais. Guaco (Homeopatia). Iodofórmio.

PROENÇA, Juliana dos Santos. **Evaluation of root canal filling materials with guaco extract and kaurenoic acid for primary teeth.** 2016. 41 p. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

ABSTRACT

Teeth with irreversible pulp diseases may require a pulpectomy, which aim the pulp removal and the root canals filling. The current materials have some biological limitations for the primary teeth endodontic treatment. Thus, this study aimed to assess the biocompatibility of root canal filling materials with guaco extract or kaurenoic acid on the primary tooth and permanent tooth germ. Twenty-six right and left sheep mandibular central incisors were randomly divided into four groups: negative control (no procedure was performed), positive control (pulpectomy + vaseline), guaco extract (pulpectomy + guaco extract paste) and kaurenoic acid (pulpectomy + kaurenoic acid paste). The animals were sedated and anesthetized. The incisors were examined radiographically and randomly submitted to pulpectomy, filling with the test pastes or vaseline and sealed with gutta percha and composite resin. After 28 days, the animals were reexamined radiographically, slaughtered and the anterior mandible area was collected, dividing it into hemiarches for histological processing. For primary tooth was evaluated the presence of external root resorption, the periodontal ligament, the osteoclast number and the remanescant pulp. For permanent tooth germ was evaluated: enamel, enamel epithelium, dentin, odontoblast layer, pulp and dental follicle. Statistical analysis was performed using the Kruskal-Wallis and Fisher's exact tests ($P < 0.05$). Inflammation on the primary tooth periapical region, as well as periapical necrosis and abscesses were observed more frequently in the positive control (vaseline); no test group found changes in radiographic exam, primary tooth physiological resorption and osteoclast activity. In the analysis of permanent tooth germ was observed a greater degree of enamel epithelium disorganization and vacuolization in guaco extract group, however with no changes in the enamel development. Inflammatory infiltrate areas were less frequent in guaco extract and kaurenoic acid groups. It was concluded that the pastes with natural compounds are biocompatible with the primary tooth and permanent tooth germ, may become options for root canal filling of primary teeth after pulpectomy.

Key words: Pulpectomy. Tooth, Deciduous. Inflammation. Plants, Medicinal. Guaco (Homeopathy). Iodoformium.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	ARTIGO.....	13
	REFERÊNCIAS.....	34
	APÊNDICES.....	37
	APÊNDICE A – Radiografias pré, pós e após 28 dias do procedimento endodôntico	37
	APÊNDICE B – Fotomicrografia	38
	ANEXO – Declaração de aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina.....	41

1 INTRODUÇÃO

O tratamento em Odontopediatria visa à manutenção dos dentes decíduos no arco até a época de sua esfoliação fisiológica, pois eles são importantes em aspectos estéticos, fonéticos e morfológicos (IMPARATO, DUARTE, MANFRO, 2012). A cárie dentária é um problema de saúde pública em todo o mundo (FILSTRUP *et al.*, 2003), e no Brasil, sua prevalência em crianças menores de cinco anos ainda é alta (BRASIL, 2010; FERREIRA *et al.*, 2007). A doença cárie e o traumatismo dentário, comuns em crianças pré-escolares, podem comprometer a polpa dos dentes decíduos causando dor e perda da função (ALDRIGUI *et al.*, 2011; ANTONIAZZI *et al.*, 2015; FERREIRA *et al.*, 2007; FILSTRUP *et al.*, 2003). A dor dificulta a alimentação, a escovação, o sono, o lazer, o aprendizado (MOURA-LEITE *et al.*, 2011) e tem impacto negativo sobre a qualidade de vida das crianças (ALDRIGUI *et al.*, 2011; ORTIZ *et al.*, 2014). Quando ela é causada por uma inflamação pulpar irreversível, devido à cárie ou trauma, é indicada a realização da pulpectomia e a consequente utilização de materiais obturadores intracanaís, o que aumenta a possibilidade da manutenção dos dentes decíduos até sua esfoliação fisiológica (RODD *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2010).

Em torno de 25% dos incisivos centrais superiores decíduos com histórico de trauma sofrem necrose pulpar (ALDRIGUI *et al.*, 2013), nestes casos, quando o diagnóstico é precoce e a manutenção do elemento dentário é possível, a pulpectomia também é indicada (RODD *et al.*, 2006), sendo considerada uma terapia pulpar radical, que consiste na extirpação da polpa e na obturação dos canais radiculares (GUEDES-PINTO, 1998). O material ideal para o preenchimento do canal radicular de dentes decíduos deve ter propriedades como: reabsorção semelhante à das raízes, ser inofensivo aos tecidos periapicais e ao germe do dente permanente, ser reabsorvível caso seja extravasado além do ápice foraminal, ser antisséptico; deve preencher facilmente os canais radiculares, aderir às suas paredes, não sofrer contração, ser facilmente removido quando necessário, ser radiopaco e não causar alterações na coloração do dente (FUKS, 2000).

Durante anos, no Brasil, a pasta à base de iodofórmio com Rifocort[®] proposta por Guedes-Pinto (1981) foi o material mais utilizado nas pulpectomias de dentes decíduos (BERGOLI *et al.*, 2010; CERQUEIRA *et al.*, 2007) devido,

principalmente, à sua alta taxa de sucesso clínico e a seus aspectos citotóxicos, microbiológicos (CERQUEIRA *et al.*, 2007) e histológicos (CERQUEIRA *et al.*, 2007; LACATIVA, LOYOLA, SOUSA, 2012). Porém, seu composto bioativo, o Rifocort[®], deixou de ser comercializado no país. Atualmente, outras pastas estão disponíveis no mercado para o tratamento endodôntico de dentes decíduos como a pasta de óxido de zinco e eugenol, pasta à base de hidróxido de cálcio, pasta CTZ (cloranfenicol, tetraciclina e óxido de zinco), Vitapex[®] e Endoflas, entretanto, todas possuem limitações importantes.

O periápice de dentes obturados com pasta de óxido de zinco e eugenol apresentou infiltrado inflamatório, edema e espessamento do ligamento periodontal (SILVA *et al.*, 2010). Além disso, o uso deste material em dentes decíduos deve ser restringido, pois sua reabsorção não ocorre simultaneamente a destes elementos (PRIMOSCH *et al.*, 2005). Pastas à base de hidróxido de cálcio foram genotóxicas *in vitro*, pois causaram danos ao DNA de células sanguíneas e do timo (PIRES *et al.*, 2015), elas ainda são solúveis aos fluídos teciduais, mesmo no interior do canal radicular (SILVA *et al.*, 2010). A pasta CTZ causou severa resposta inflamatória e necrose do tecido ósseo, não sendo considerada biocompatível para a obturação de canais radiculares de dentes decíduos (LACATIVA, LOYOLA, SOUSA, 2012). Na análise *in vitro*, o poder antimicrobiano da Vitapex[®] (hidróxido de cálcio e iodofórmio) é significativamente reduzido após oito e principalmente após 14 dias (PAVASKAR *et al.*, 2012). Já o Endoflas, que é uma pasta endodôntica à base de iodofórmio, óxido de zinco, hidróxido de cálcio e paramonoclorofenol, acelerou a reabsorção de molares decíduos (MOSKOVITZ, ASHKAR, HOLAN, 2012). Devido às desvantagens dos produtos existentes, faz-se necessário o desenvolvimento de novos materiais, os quais devem possuir propriedades adequadas para o tratamento endodôntico dos dentes decíduos.

Domingues (2013) avaliou o efeito da pasta à base de iodofórmio e Rifocort[®] (Guedes-Pinto) e de duas pastas contendo compostos naturais na evolução do processo inflamatório local e na viabilidade dos odontoblastos, células da câmara pulpar, órgão do esmalte e tecidos periapicais, após pulpectomia de incisivos de ratos. As pastas experimentais eram constituídas de iodofórmio, paramonoclorofenol canforado e óleo de copaíba ou extrato de guaco. O estudo concluiu que as pastas com compostos naturais foram biocompatíveis, pois não causaram necrose em nenhum dos tecidos dentários analisados. As menores

alterações às estruturas dentárias foram verificadas no grupo guaco e os melhores efeitos anti-inflamatórios no grupo copaíba.

No entanto, o trabalho de Domingues (2013) não avaliou a biocompatibilidade das pastas em relação à reabsorção do dente decíduo e o desenvolvimento do germe do permanente. Sendo assim, a presente pesquisa buscou ampliar o uso da pasta com extrato de guaco a animais que permitem essas avaliações. Além disso, uma pasta com ácido caurenóico, constituinte tanto do óleo de copaíba quanto do extrato de guaco, foi testada para verificar se seus efeitos seriam promissores no tratamento endodôntico dos dentes decíduos, uma vez que ele é considerado um metabólito com propriedades anti-inflamatória (CHOI *et al.*, 2011; DANG *et al.*, 2005; LIM *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2015; VARGAS *et al.*, 2015), antioxidante (PAIVA *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2015) e analgésica (MIZOKAMI *et al.*, 2012). A toxicidade do ácido caurenóico é dose-dependente (CAVALCANTI *et al.*, 2006), considerando-se que no tratamento endodôntico utiliza-se uma pequena quantidade do material, o risco de efeitos tóxicos é pequeno.

Várias espécies do gênero *Mikania*, mais conhecidas como guaco, são utilizadas como plantas medicinais na América do Sul (FREITAS *et al.*, 2008). O extrato de guaco possui propriedades anti-inflamatória, anti-hemorrágica (ALVES *et al.*, 2009; MOURAO *et al.*, 2014) e antimicrobiana (DUARTE *et al.*, 2005; YATSUDA *et al.*, 2005). Demonstrou-se ainda que o guaco não causa efeitos genotóxicos (SOARES DE MOURA *et al.*, 2002) e citotóxicos em camundongos (ALVES *et al.*, 2009). A cumarina e o ácido caurenóico são os principais metabólitos responsáveis pelos efeitos farmacológicos do guaco (GASPARETTO *et al.*, 2015).

Baseado na necessidade de desenvolver novas pastas para o tratamento endodôntico dos dentes decíduos e devido ao pouco conhecimento sobre os efeitos das plantas fitoterápicas quando utilizadas como material de preenchimento de canais radiculares, o objetivo deste estudo foi avaliar a biocompatibilidade de pastas endodônticas contendo extrato de guaco ou ácido caurenóico, analisando-se seus efeitos sobre o dente decíduo e o germe do dente permanente. A hipótese do estudo é que as pastas com compostos naturais não causam alterações radiográficas e na formação dos tecidos dentários, não produzem inflamação periapical e no folículo dentário e principalmente, não influenciam na reabsorção fisiológica do dente decíduo, sendo consideradas biocompatíveis.

2 ARTIGO

Artigo formatado conforme as normas da revista "International Journal of Paediatric Dentistry".

Avaliação de pastas endodônticas para dentes decíduos à base de extrato de guaco e de ácido caurenóico

Juliana dos Santos Proença¹, Solange de Paula Ramos², Nilton Syogo Arakawa³,
Edwin Fernando Ruiz Contreras⁴

¹Mestranda do Programa de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brasil.

²Departamento de Histologia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brasil.

³Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brasil.

⁴Departamento de Odontologia Restauradora, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brasil.

Correspondência para:

Edwin Fernando Ruiz Contreras

Departamento de Odontologia Restauradora

Clínica Odontológica Universitária

Universidade Estadual de Londrina - UEL

Rua Pernambuco 540, CEP: 86020-120, Centro,

Londrina, PR, Brasil.

Phone: +55 43 3371-6750 / Fax: +55 43 3371-6755

E-mail: edwin@uel.br

Resumo

Introdução. Extrato de guaco e ácido caurenóico possuem propriedades anti-inflamatória, analgésica e antimicrobiana, o que pode torná-los opções para o tratamento endodôntico de dentes decíduos.

Objetivo. Avaliar a biocompatibilidade de pastas endodônticas contendo extrato de guaco ou ácido caurenóico sobre o dente decíduo e germe do dente permanente.

Material e Métodos. 26 incisivos inferiores decíduos de 13 carneiros foram divididos aleatoriamente em 4 grupos. O controle negativo (CN) não foi submetido à pulpectomia. Nos demais grupos, após pulpectomia, preencheram-se os condutos com: vaselina (Controle positivo - CP), pasta com extrato de guaco (EG) e pasta com ácido caurenóico (AC). Após 28 dias, os animais foram abatidos e as peças submetidas ao processamento histológico. Avaliaram-se áreas de reabsorção fisiológica, região periapical do dente decíduo e o germe do dente permanente. Na análise estatística, empregaram-se os testes de Kruskal-Wallis e exato de Fisher ($p < 0,05$).

Resultados. Não foram encontradas alterações no exame radiográfico, na reabsorção fisiológica do dente decíduo e na atividade de osteoclastos nos grupos EG e AC. Áreas de infiltrado inflamatório foram menos frequentes nos grupos contendo EG e AC.

Conclusão. As pastas endodônticas com compostos naturais são biocompatíveis, pois não provocaram alterações no processo de reabsorção fisiológica do dente decíduo e no desenvolvimento do dente permanente.

Abstract

Background. Guaco extract and kaurenoic acid have anti-inflammatory, analgesic and antimicrobial properties, which can make them options for primary teeth endodontic treatment.

Aim. Evaluate the biocompatibility of root canal filling materials with guaco extract or kaurenoic acid on the primary tooth and permanent tooth germ.

Design. 26 deciduous mandibular incisors of 13 sheep were randomly divided into four groups. The negative control (NC) was not submitted to pulpectomy. In the other groups, after pulpectomy, the root canal was filled with: vaseline (PC), guaco extract paste (GE) and kaurenoic acid paste (KA). After 28 days, the animals were slaughtered and the pieces were prepared for histological processing. The physiological resorption and periapical region of the primary teeth and permanent tooth germ were evaluated. The statistical analysis was performed with Kruskal-Wallis and Fisher's exact tests ($P < 0.05$).

Results. No group found changes in radiographic exam, on primary tooth physiological resorption and osteoclast activity in the GE and AK groups. Inflammatory infiltrate areas were less frequent in GE and KA groups.

Conclusions. The pastes with natural compounds were biocompatible, because they did not cause change in the primary teeth physiological resorption process and in the permanent tooth development.

Introdução

A manutenção da dentição decídua até sua esfoliação fisiológica é fundamental para o correto desenvolvimento do sistema estomatognático. Apesar da diminuição nos índices de cárie, não foi possível eliminá-la por completo e, conseqüentemente, o comprometimento pulpar ainda ocorre em alguns casos. Uma vez que a polpa apresenta-se comprometida, ela deve ser tratada, no entanto, a terapia endodôntica em dentes decíduos tem sido um dos assuntos mais complexos e controversos da Odontopediatria¹. Vários materiais estão disponíveis no mercado para a obturação de canais radiculares de dentes decíduos após pulpectomias, contudo, não há um consenso em relação à superioridade de uma medicação sobre a outra², além de pesquisas mostrarem limitações importantes de cada uma delas²⁻⁶.

O uso da pasta de óxido de zinco e eugenol deve ser restringido, pois ela causa inflamação periapical³ e sua reabsorção não ocorre simultaneamente a do dente decíduo⁴. Pastas à base de hidróxido de cálcio são genotóxicas *in vitro*² e solúveis aos fluídos teciduais, mesmo no interior do canal radicular³. A pasta CTZ (cloranfenicol, tetraciclina e óxido de zinco) causa severa resposta inflamatória e necrose do tecido ósseo, não sendo considerada biocompatível para a obturação de canais radiculares de dentes decíduos⁵. O poder antimicrobiano da Vitapex[®] (hidróxido de cálcio e iodofórmio), *in vitro*, é significativamente reduzido após oito e principalmente após 14 dias⁷. Já o Endoflas (iodofórmio, óxido de zinco, hidróxido de cálcio e paramonoclorofenol) acelera a reabsorção de molares decíduos⁶.

O uso de fitoterápicos pode ser uma alternativa interessante na busca por novas pastas endodônticas para dentes decíduos, pois eles possuem propriedades que se mostram fundamentais para um material de preenchimento de canais

radiculares. O extrato de guaco é anti-inflamatório, anti-hemorragico^{8, 9} e antimicrobiano¹⁰, e não apresenta genotoxicidade¹¹ e citotoxicidade⁸. O ácido caurenóico, que é um metabólito do guaco, tem propriedades anti-inflamatória¹²⁻¹⁴, antioxidante¹³ e analgésica¹⁵. A toxicidade do ácido caurenóico é dose-dependente¹⁶.

Baseado na necessidade de desenvolver novas pastas para o tratamento endodôntico dos dentes decíduos e devido ao pouco conhecimento sobre os efeitos das plantas fitoterápicas quando utilizadas como material de preenchimento de canais radiculares, o objetivo deste estudo foi avaliar a biocompatibilidade de pastas endodônticas contendo extrato de guaco ou ácido caurenóico, analisando-se seus efeitos sobre o dente decíduo e o germe do dente permanente. A hipótese do estudo é que as pastas com compostos naturais não causam alterações radiográficas e na formação dos tecidos dentários, não produzem inflamação periapical e no folículo dentário e principalmente, não influenciam na reabsorção fisiológica do dente decíduo, sendo consideradas biocompatíveis.

Material e Métodos

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (UEL) (Anexo – página 41).

Utilizaram-se treze carneiros, machos e fêmeas, pesando em média 29 kg e com média de idade de 15 meses, fornecidos pela Fazenda Escola da Universidade Estadual de Londrina. Os animais foram alojados na fazenda, que era provida de cochos e bebedouros, e receberam alimentação à vontade à base de silagem de sorgo e concentrado com base de milho e farelo de soja. Como os ruminantes não apresentam dentes anteriores na arcada superior, para a realização dos

procedimentos, os incisivos centrais inferiores direito e esquerdo (n=26 dentes) de cada carneiro foram alocados em quatro grupos:

- a) *Grupo controle negativo (CN) (n=2 dentes)*: Um dos animais não foi submetido à pulpectomia.
- b) *Grupo controle positivo (CP) (n=8 dentes)*: Pulpectomia + vaselina.
- c) *Grupo extrato de guaco (EG) (n=8 dentes)*: Pulpectomia + pasta contendo extrato de guaco.
- d) *Grupo ácido caurenóico (AC) (n=8 dentes)*: Pulpectomia + pasta contendo ácido caurenóico.

Dois elementos dentários do grupo CN foram utilizados para observação dos parâmetros de normalidade histológica dos incisivos centrais inferiores de carneiros.

Pulpectomia

Previamente aos procedimentos de sedação e anestesia, os animais foram submetidos a 12 horas de jejum e restrição hídrica por se tratar de uma espécie que apresenta fácil regurgitação do conteúdo ruminal.

Todos os procedimentos de sedação e anestesia (geral e local) foram realizados por médico veterinário da UEL, que possui experiência neste procedimento em ruminantes. A sedação foi realizada com Cloridrato de xilazina 2% (0,05 mg/kg, via intravenosa) (Anasedan Injetável, Sespo Indústria e Comércio LTDA, Paulínia, SP, Brasil). Cinco minutos após a administração desse fármaco, implantou-se um cateter calibre 20 na veia marginal da orelha, por onde foi administrada solução de Ringer Lactato (Eurofarma Laboratórios S.A., Ribeirão Preto, SP, Brasil) em uma taxa de infusão de 10 mL/kg/h. Pelo mesmo acesso,

administrou-se o Propofol (5 mg/kg, via intravenosa) (Provive 1%, Claris Lifesciences Limited, Ahmedabad, Índia) para indução da anestesia geral. Procedeu-se a intubação orotraqueal dos animais e administração de Isoflurano (Instituto Biochimico Ind. Farm. LTDA, Itatiaia, RJ, Brasil) diluído em 100% de oxigênio para a manutenção da anestesia. Realizou-se a anestesia local com Cloridrato de mepivacaína 2% e epinefrina 1:100.000 (Mepivalem® AD, Dentsply Pharmaceutical, Catanduva, SP, Brasil), utilizando-se 0,5 mL para cada dente, de maneira que o animal não sofresse nenhum desconforto durante o procedimento.

Para o tratamento endodôntico procedeu-se a radiografia periapical inicial (6 segundos de exposição, 70 kVP, 8 mA, Spectro 70X Eletronic – Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil), empregando-se a técnica da bissetriz, para determinação do comprimento do canal radicular. A seguir, foi realizada a antissepsia intraoral com solução de iodo, profilaxia com peróxido de hidrogênio a 3% e os dentes foram enxaguados com soro fisiológico. A abertura coronária foi realizada por acesso lingual com auxílio de pontas diamantadas esféricas n^{os} 2 e 5 (Option, Paul Sorensen, Osasco, SP, Brasil) montadas em motor de baixa rotação sob refrigeração com soro fisiológico. Determinou-se o comprimento de trabalho com auxílio da radiografia inicial, instrumentando-se 2/3 da raiz do dente decíduo com limas Hedstroem (Maillefer, Dentsply, Ballaigues, Suíça) de 21mm, sendo utilizados dois instrumentos sequencialmente acima do inicial. O canal foi irrigado com soro fisiológico a cada instrumentação e secado com papel absorvente e bolinhas de algodão estéril para auxiliar na contenção do sangramento.

De acordo com os grupos, realizou-se o curativo endodôntico com:

- CP – vaselina sólida (Indústria Farmacêutica Rioquímica LTDA, São José do Rio Preto, SP, Brasil);

- EG – pasta composta por 0,30 mg de iodofórmio (Maquira, Maringá, PR, Brasil), 0,25 mg de extrato de guaco (pó, extrato diclorometânico da *Mikania hirsutissima*, Nutri Comércio de Ervas LTDA, São Paulo, SP, Brasil) e 0,1 mL de paramonoclorofenol canforado (Maquira, Maringá, PR, Brasil);
- AC - pasta composta por 0,30 mg de iodofórmio (Maquira, Maringá, PR, Brasil), 0,25 mg de ácido caurenóico (pó, 96% de pureza {HPLC High-performance liquid chromatography}, isolado do extrato de guaco no Laboratório de Farmacognosia da UEL) e 0,1 mL de paramonoclorofenol canforado (Maquira, Maringá, PR, Brasil).

As pastas experimentais foram manipuladas somente no momento de sua utilização. Como parâmetro de normalidade histológica dos incisivos centrais inferiores, os animais do grupo CN não foram submetidos ao tratamento endodôntico.

As pastas foram inseridas de forma aleatória (por sorteio) em cada incisivo, sendo que cada animal recebeu uma das combinações abaixo:

- 1) Extrato de guaco e Ácido caurenóico
- 2) Vaselina sólida e Extrato de guaco
- 3) Ácido caurenóico e Vaselina sólida

Para o selamento dos dentes utilizou-se guta-percha em bastão (Odahcam, Maillefer, Dentsply, Ballaigues, Suíça), posteriormente foi realizado condicionamento com ácido fosfórico a 37% (Condac 37, FGM, Joinville, SC, Brasil), aplicação de sistema adesivo (Magic Bond, Coltene, Vigodent S/A Indústria e Comércio, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), fotopolimerização segundo recomendações do fabricante, inserção da resina composta (Filtek Z350 XT, 3M Espe, Sumaré, SP, Brasil) e

fotopolimerização. Para verificar a qualidade e a extensão da obturação realizou-se uma radiografia periapical final.

Após o término do tratamento endodôntico, a administração de Isoflurano foi interrompida e injetou-se a primeira dose de Meloxicam 2% (0,25 mg/kg, via subcutânea) (Maxicam 2%, Ourofino Saúde Animal LTDA, Cravinhos, SP, Brasil) a fim de promover analgesia. Aproximadamente 12 horas após os procedimentos, a mesma dose de Meloxicam 2% foi novamente administrada.

Análise radiográfica e procedimentos histopatológicos

Após 28 dias da realização do procedimento endodôntico, os dentes foram reexaminados radiograficamente por um avaliador calibrado e cego para a alocação dos grupos, verificando-se a presença de reabsorção dentária periapical no dente decíduo, áreas de rarefação óssea periapical, material radiopaco no espaço periodontal, alterações no padrão de reabsorção dentária do dente decíduo e alterações morfológicas na coroa e tecidos circunjacentes ao dente permanente em formação. Procedeu-se o abate e a região anterior da mandíbula foi removida e dividida em hemiarcadas, as quais foram fixadas em solução de Bouin aquosa (48 horas) e submetidas à descalcificação em solução de ácido fórmico (citrato de sódio 13M, ácido fórmico 5,7M, água destilada q.s.p.) por 120 dias.

Para inclusão, as peças foram desidratadas em álcool etílico, diafanizadas em xilol e embebidas em parafina. Cortes seriados de 10µm com 100µm de distância entre eles foram obtidos, montados em lâminas histológicas e corados em Hematoxilina e Eosina. Selecionaram-se doze lâminas de cada amostra para análise da região apical do dente decíduo e de áreas do germe do dente permanente.

Os cortes histológicos foram analisados por microscopia de luz em aumentos de 5, 10 e 20X, por um avaliador experiente e calibrado, cego para a alocação dos grupos.

Adotaram-se os seguintes critérios para análise:

- Dente decíduo: presença de áreas de reabsorção dentária fisiológica; número de osteoclastos por superfície de reabsorção (1000 μ m); presença de infiltrado inflamatório, edema, hemorragia e necrose em ligamento periodontal; presença de resíduo de material obturador na região apical; formação de dentina reparadora ou reacional.
- Germe do dente permanente: organização do esmalte, epitélio do esmalte, dentina, camada odontoblástica, polpa e folículo dentário.

O número mediano de osteoclastos foi determinado calculando-se a extensão da área de reabsorção radicular apical no dente decíduo, o número de osteoclastos na região analisada e normalizando-se o número de células por 1000 μ m de superfície dentária reabsorvida. As imagens histológicas foram obtidas e analisadas com auxílio do sistema de captura de imagens Moticam 2000 (Motic Co., Xiamen, China) acoplado a um microscópio óptico e com o *software* Motic Image Plus 2.0 (Motic Co., Xiamen, China).

Análise estatística

Na análise da distribuição de normalidade do número de osteoclastos empregou-se o Teste de Normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Os grupos não apresentaram distribuição normal, por isso os dados foram expressos em mediana e quartis de 25 a 75%. Avaliaram-se as diferenças entre grupos por meio do teste de

Kruskal-Wallis. Para os demais dados utilizou-se o teste exato de Fisher. A diferença entre grupos foi considerada significativa quando $p < 0,05$.

Resultados

Após os procedimentos endodônticos e anteriormente ao abate, perdeu-se um total de cinco dentes, sendo três no CP, um no EG e um no AC, devido à fratura coronária ou falha da restauração, com conseqüente contaminação do canal radicular por saliva e restos alimentares. Das trezentos e doze lâminas selecionadas (doze de cada amostra), excluíram-se nove do grupo CN, dezessete do CP, vinte e seis do EG e dez do AC, pois as regiões de interesse estavam rasgadas, descoladas ou dobradas, impossibilitando sua avaliação. Os números finais de dentes e de lâminas utilizados na análise estatística estão apresentados nas Tabelas 1 e 2.

No exame radiográfico inicial (Pré), todos os incisivos centrais inferiores avaliados apresentaram áreas de reabsorção fisiológica radicular na região apical. A radiografia realizada imediatamente após a obturação dos canais radiculares (Pós) revelou a presença de material radiopaco nos grupos EG e AC, em aproximadamente dois terços do comprimento do canal radicular, sem extravasamento para a região periapical. Não houve alterações no padrão de reabsorção dentária fisiológica no CN e nos grupos submetidos ao tratamento endodôntico após 28 dias da intervenção. No EG e no AC foi observada ainda, a presença do material radiopaco intrarradicular em dois terços da raiz remanescente, sem evidência de resíduos das pastas na região periapical. Nenhum dos grupos apresentou rarefações ósseas difusas, sugestivas de processos inflamatórios periapicais. Os germes dos dentes permanentes demonstraram formação da coroa dentária antes do período de rizogênese. Não houve alterações radiográficas na

anatomia da coroa dos sucessores permanentes e nos tecidos calcificados circunjacentes (Apêndice A - Figura 1, página 37).

A análise microscópica demonstrou que todos os dentes apresentaram áreas de reabsorção dentária periapical. Não foi observada a presença de infiltrado inflamatório no periápice e no ligamento periodontal dos dentes decíduos no grupo CN. No entanto, o CP apresentou a maior frequência de áreas de inflamação crônica, composta por macrófagos, células mononucleares e poucos neutrófilos associados à necrose na região periapical dos incisivos decíduos. Áreas de infiltrado inflamatório foram menos frequentes nos grupos AC e EG (Tabela 1, Apêndice B - Figura 2, página 38).

Identificaram-se necrose e abscesso periapicais em três dentes do grupo CP e em apenas um do grupo AC, sendo observadas regiões de degeneração do ligamento periodontal próximas ao ápice radicular, circundadas por halo de células inflamatórias (Tabela 1, Apêndice B - Figura 2B, página 38).

Vasodilatação, edema e hemorragia ocorreram em todos os grupos, possivelmente devido à mobilidade dentária dos dentes em esfoliação. Áreas de dentina reacional e reparadora, caracterizadas pela obliteração parcial do canal radicular, e formação de pontes de dentina foram vistas em dois dentes do grupo CP e um do grupo EG (Tabela 1).

A análise do número mediano de osteoclastos por 1000 micrômetros de superfície de reabsorção dentária demonstrou número semelhante de células, independente da presença do material obturador (Tabela 1, Apêndice B - Figura 3, página 39).

Tabela 1. Análise da região periapical do dente decíduo.

Grupo	CN	CP	EG	AC
Nº total de lâminas¹	n=15	n=30	n=57	n=45
Nº total de dentes	n=2	n=5	n=7	n=7
Inflamação periapical				
Número de lâminas ²	-	13 (43,3%) ^a	01 (01,7%) ^b	05 (11,1%) ^c
Número de dentes afetados ³		03 (60,0%)	01 (14,3%)	04 (57,1%)
Necrose e abscesso periapical				
Número de lâminas	-	08 (26,6%) ^a	-	01 (01,1%) ^b
Número de dentes afetados		03 (60,0%)		01 (14,3%)
Edema e hemorragia periapical				
Número de lâminas	01 (06,6%) ^a	04 (13,3%) ^a	02 (03,5%) ^a	04 (08,8%) ^a
Número de dentes afetados	01 (50,0%)	03 (60,0%)	01 (14,3%)	01 (14,3%)
Dentina reparadora				
Número de lâminas	-	04 (13,3%) ^a	01 (01,7%) ^a	-
Número de dentes afetados		02 (40,0%)	01 (14,3%)	
Osteoclastos (n/1000 µm)⁴	1,4 (1,0 – 2,9) ^a	1,6 (0,0 – 3,0) ^a	0,7 (0,0 – 2,6) ^a	1,1 (0,0 - 2,2) ^a

¹Lâminas com cortes que englobaram o dente decíduo e o germe do dente permanente simultaneamente.

²Porcentagem em relação ao número total de lâminas analisadas em cada grupo.

³Porcentagem em relação ao número total de dentes analisados em cada grupo.

⁴Mediana (quartis 25% - 75%), Teste de Kruskal-Wallis ($p > 0,05$).

Valores seguidos de letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatisticamente significativa pelo teste exato de Fisher ($p < 0,05$).

O dente permanente do grupo CN apresentou folículo dentário com epitélio reduzido do esmalte em forma de paliçada e ausência de estrato intermediário na região de borda incisal. No terço médio da coroa em formação verificou-se órgão do esmalte composto de epitélio do esmalte, estrato intermediário e folículo dentário, envolvido por tecido conjuntivo e osso primário. A matriz de esmalte dentário calcificado foi removida durante o processo de descalcificação das amostras, podendo ser vistos remanescentes da matriz recém-sintetizada próximos ao terço médio da coroa em formação. Verificou-se formação de dentina circumpulpar e polpa dentária composta de camada odontoblástica e tecido conjuntivo frouxo rico em vasos sanguíneos.

Observaram-se áreas de desorganização e vacuolização do epitélio do esmalte próximo à região incisal do germe do dente permanente nos grupos CP, EG e AC, ocorrendo com maior frequência no grupo EG (Tabela 2, Apêndice B - Figura 4, página 40). Distúrbios da formação de matriz de esmalte, caracterizados por deposição irregular de matriz, acúmulo de material acidófilo sobre a superfície de dentina do manto e pérolas de esmalte, foram verificados em um dente do grupo EG e um do AC, sem aumento significativo na frequência (Tabela 2).

Não foi observado infiltrado inflamatório significativo no folículo dentário, órgão do esmalte ou complexo dentina-polpa dos dentes permanentes em formação (Tabela 2).

Tabela 2. Análise do germe do dente permanente.

Grupo	CN	CP	EG	AC
Nº total de lâminas ¹	n=15	n=43	n=58	n=74
Nº total de dentes	n=2	n=5	n=7	n=7
Desorganização e vacuolização do epitélio do esmalte				
Número de lâminas ²	-	03 (06,9%) ^a	13 (22,4%) ^b	05 (06,7%) ^a
Número de dentes afetados ³		01 (20,0%)	02 (28,6%)	04 (57,1%)
Alteração do esmalte em formação				
Número de lâminas	-	-	06 (10,3%) ^a	02 (02,7%) ^a
Número de dentes afetados			01 (14,3%)	01 (14,3%)
Infiltrado inflamatório no folículo dentário				
Número de lâminas	-	-	01 (01,7%) ^a	02 (02,7%) ^a
Número de dentes afetados			01 (14,3%)	01 (14,3%)

¹Lâminas com cortes que englobaram o dente decíduo e o germe do dente permanente simultaneamente, somadas àquelas contendo cortes que englobaram somente o permanente.

²Porcentagem em relação ao número total de lâminas analisadas em cada grupo.

³Porcentagem em relação ao número total de dentes analisados em cada grupo.

Valores seguidos de letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatisticamente significante pelo teste exato de Fisher ($p < 0,05$).

Discussão

Os animais utilizados na pesquisa tinham em média quinze meses, idade provável de substituição dos incisivos centrais¹⁷ e ideal para a avaliação da reabsorção fisiológica do dente decíduo e desenvolvimento do permanente. Contudo, nessa fase os dentes possuem mobilidade, podendo causar edema e hemorragia periapicais como observado no presente estudo, no qual eles ocorreram independente da realização da pulpectomia ou da pasta obturadora utilizada.

As pastas com compostos naturais não alteraram o número de osteoclastos e permitiram a reabsorção fisiológica do dente decíduo, além de não ter sido verificada a presença de resíduos dos materiais na região periapical do elemento dentário. Portanto, o extrato de guaco e o ácido caurenóico não alteram o metabolismo normal de reabsorção radicular dos dentes decíduos e ainda são reabsorvidos simultaneamente a eles, propriedade desejada para pastas obturadoras destes elementos, pois caso contrário, elas ficariam em constante contato com os tecidos vitais, podendo causar uma reação de corpo de estranho⁵.

O procedimento endodôntico pode ser visto como uma agressão aos tecidos dentários e como mecanismo de defesa eles respondem através da inflamação. Mediadores inflamatórios como a prostaglandina E₂ (PGE₂) também estão envolvidos nesse processo¹⁸, sendo verificado que a presença de PGE₂ na polpa correlaciona-se positivamente com o aspecto radiográfico de dentes vitais com falha no tratamento endodôntico¹⁹. Logo, um material com capacidade de inibir esse mediador, associada a outras propriedades, pode relacionar-se ao sucesso dos procedimentos endodônticos, pois a agressão aos tecidos seria controlada por sua ação sobre a inflamação. Para obter um parâmetro comparativo da atividade

inflamatória dos materiais em teste, utilizou-se a vaselina como controle positivo por ela ser um material inerte, não reabsorvível e sem efeito anti-inflamatório. Sendo assim, o CP apresentou a maior frequência de infiltrado inflamatório no periápice do dente decíduo, além de um alto grau de necrose e abscesso periapicais.

Nos grupos em que foi realizada a pulpectomia e a obturação com as pastas contendo compostos naturais observou-se inflamação no periápice do elemento decíduo e no folículo do dente permanente. A resposta inflamatória dos tecidos dentários pode ser atribuída à presença do paramonoclorofenol canforado nas pastas em teste, uma vez que, apesar de ser analgésico e antimicrobiano, segundo Silva *et al.*³ e Nelson Filho *et al.*²⁰, ele é considerado um material com grande potencial citotóxico e inflamatório. O grupo ácido caurenóico mostrou menor frequência de inflamação quando comparado ao controle positivo. Esse achado corrobora com vários estudos, os quais demonstram o poder inibitório do ácido caurenóico sobre enzimas e conseqüentemente sobre mediadores inflamatórios, inclusive PGE_2 ¹⁵, proteínas inflamatórias¹³, migração de leucócitos, edema e injúria tecidual²¹. O extrato de guaco apresentou infiltrado inflamatório em somente 1,7% das lâminas avaliadas neste grupo, a menor frequência dentre os grupos nos quais o procedimento endodôntico foi realizado. Sua ação sobre a inflamação está relacionada principalmente com a inibição do edema^{9, 11}, de células inflamatórias⁹ e da injúria tecidual⁸.

O ácido caurenóico é considerado um dos metabólitos responsáveis pelas ações farmacológicas do guaco²². Suspeita-se que o efeito da cumarina, também constituinte do guaco e com relevância terapêutica anteriormente relatada, principalmente sobre a inflamação^{11, 22}, somou-se ao do ácido caurenóico levando ao menor efeito inflamatório observado no extrato. Utilizou-se no presente estudo o

extrato diclorometânico da *Mikania hirsutissima*, o que pode fundamentar esta suspeita, pois estudos mostram a presença de ácido caurenóico e de cumarina nesta espécie²³ e principalmente no extrato diclorometânico do gênero *Mikania*¹¹. Apesar dos benefícios observados na obturação dos canais radiculares com a pasta contendo guaco, ela causou desorganização e vacuolização no epitélio do esmalte do dente permanente. A literatura relata que distúrbios locais no órgão do esmalte podem estar associados a defeitos de formação do esmalte dentário e que a gravidade de tais defeitos depende da intensidade e duração do distúrbio e da fase de atividade do ameloblasto²⁴. No presente estudo, a maior parte do esmalte dentário do germe permanente já estava em uma fase mais avançada de maturação, o que limitou a observação de todas as possíveis alterações causadas pela desorganização e vacuolização do epitélio do esmalte. Sendo assim, pesquisas devem ser desenvolvidas em animais com menos de quinze meses de idade, nos quais o esmalte esteja nas primeiras fases de formação, e com o intuito de analisar os efeitos do guaco em diferentes concentrações e por um período de tempo maior que 28 dias. Outros constituintes do extrato além do ácido caurenóico devem ser caracterizados, pois podem ser os responsáveis pelas alterações no epitélio do esmalte.

Nenhum dos materiais testados alterou significativamente a formação do esmalte e da dentina, a organização da camada odontoblástica, a polpa e o folículo dentário do germe do dente permanente. O dente decíduo, o sucessor permanente e os tecidos adjacentes a estas estruturas mantiveram-se saudáveis radiograficamente após a obturação com as pastas em teste, que se mostraram radiopacas, facilitando a análise de sua reabsorção através de radiografias periapicais, as quais fazem parte do cotidiano clínico de todo cirurgião-dentista.

As pastas endodônticas contendo compostos naturais são biocompatíveis ao dente decíduo e ao germe do dente permanente. Considerando que a hipótese deste estudo foi aceita, as pastas com extrato de guaco ou ácido caurenóico podem se tornar opções para a obturação de canais radiculares de dentes decíduos após pulpectomias.

Referências

- 1 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.
- 2 Pires CW, Botton G, Cadon FC et al. Induction of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity by root filling pastes used in primary teeth. *Int Endod J* 2015; **48**.
- 3 Silva LA, Leonardo MR, Oliveira DS et al. Histopathological evaluation of root canal filling materials for primary teeth. *Braz Dent J* 2010; **21**: 38-45.
- 4 Primosch RE, Ahmadi A, Setzer B, Guelmann M. A retrospective assessment of zinc oxide-eugenol pulpectomies in vital maxillary primary incisors successfully restored with composite resin crowns. *Pediatr Dent* 2005; **27**: 470-477.
- 5 Lacativa AM, Loyola AM, Sousa CJ. Histological evaluation of bone response to pediatric endodontic pastes: An experimental study in guinea pig. *Braz Dent J* 2012; **23**: 635-644.
- 6 Moskovitz M, Ashkar H, Holan G. Degree of root resorption after root canal treatment with iodoform-containing filling material in primary molars. *Quintessence Int* 2012; **43**: 361-368.
- 7 Pavaskar R, de Ataide IN, Chalakkal P et al. An in vitro study comparing the intracanal effectiveness of calcium hydroxide- and linezolid-based medicaments against *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2012; **38**: 95-100.

- 8 Alves CF, Alves VB, de Assis IP et al. Anti-inflammatory activity and possible mechanism of extract from *Mikania laevigata* in carrageenan-induced peritonitis. *J Pharm Pharmacol* 2009; **61**: 1097-1104.
- 9 Mourao VB, Giraldi GM, Neves LM et al. Anti-hemorrhagic effect of hydro-alcoholic extract of the leaves of *Mikania glomerata* in lesions induced by *Bothrops jararaca* venom in rats. *Acta Cir Bras* 2014; **29**: 30-37.
- 10 Yatsuda R, Rosalen PL, Cury JA et al. Effects of *Mikania* genus plants on growth and cell adherence of mutans streptococci. *J Ethnopharmacol* 2005; **97**: 183-189.
- 11 Soares de Moura R, Costa SS, Jansen JM et al. Bronchodilator activity of *Mikania glomerata* Sprengel on human bronchi and guinea-pig trachea. *J Pharm Pharmacol* 2002; **54**: 249-256.
- 12 Choi RJ, Shin EM, Jung HA, Choi JS, Kim YS. Inhibitory effects of kaurenoic acid from *Aralia continentalis* on LPS-induced inflammatory response in RAW264.7 macrophages. *Phytomedicine* 2011; **18**: 677-682.
- 13 Silva J JL, Pompeu DG, Ximenes NC et al. Effects of Kaurenoic acid and Arginine on random skin flap oxidative stress, inflammation, and cytokines in rats. *Aesthetic Plast Surg* 2015; **39**: 971-977.
- 14 Vargas FS, Almeida PDO, Aranha ESP et al. Biological activities and cytotoxicity of diterpenes from *Copaifera* spp. Oleoresins. *Molecules* 2015; **20**: 6194-6210.
- 15 Mizokami SS, Arakawa NS, Ambrosio SR et al. Kaurenoic acid from *Sphagneticola trilobata* Inhibits Inflammatory Pain: effect on cytokine production and activation of the NO-cyclic GMP-protein kinase G-ATP-sensitive potassium channel signaling pathway. *J Nat Prod* 2012; **75**: 896-904.

- 16 Cavalcanti BC, Costa-Lotufo LV, Moraes MO et al. Genotoxicity evaluation of kaurenoic acid, a bioactive diterpenoid present in Copaiba oil. *Food Chem Toxicol* 2006; **44**: 388-392.
- 17 NSW Agriculture - Agfact A3.0.1. How to tell the age of sheep. <http://www.dpi.nsw.gov.au/__data/assets/pdf_file/0004/179797/aging-sheep.pdf> (Acesso em: 20 de Julho de 2015).
- 18 Hebling J, Ribeiro APD, Costa CAS. Relação entre materiais dentários e o complexo dentino-pulpar. *Rev Odontol Bras Central* 2010; **18**: 1-9.
- 19 Waterhouse PJ, Nunn JH, Whitworth JM. Prostaglandin E2 and treatment outcome in pulp therapy of primary molars with carious exposures. *Int J Paediatr Dent* 2002; **12**: 116-123.
- 20 Nelson Filho P, Silva LA, Leonardo MR, Utrilla LS, Figueiredo F. Connective tissue responses to calcium hydroxide-based root canal medicaments. *Int Endod J* 1999; **32**: 303-311.
- 21 Paiva LAF, Gurgel LA, Silva RM et al. Anti-inflammatory effect of kaurenoic acid, a diterpene from *Copaifera langsdorffii* on acetic acid-induced colitis in rats. *Vascul Pharmacol* 2003; **39**: 303-307.
- 22 Gasparetto JC, Peccinini RG, de Francisco TMG, Cerqueira LB, Campos FR, Pontarolo R. A kinetic study of the main Guaco metabolites using syrup formulation and the identification of an alternative route of Coumarin metabolism in humans. *PLoS One* 2015; **10**.
- 23 Ohkoshi E, Makino M, Fujimoto Y. Studies on the constituents of *Mikania hirsutissima* (Compositae). *Chem Pharm Bull* 1999; **47**: 1436-1438.
- 24 Suckling GW. Developmental defects of enamel – Historical and present – day perspectives of their pathogenesis. *Adv Dent Res* 1989; **3**: 87-94.

REFERÊNCIAS

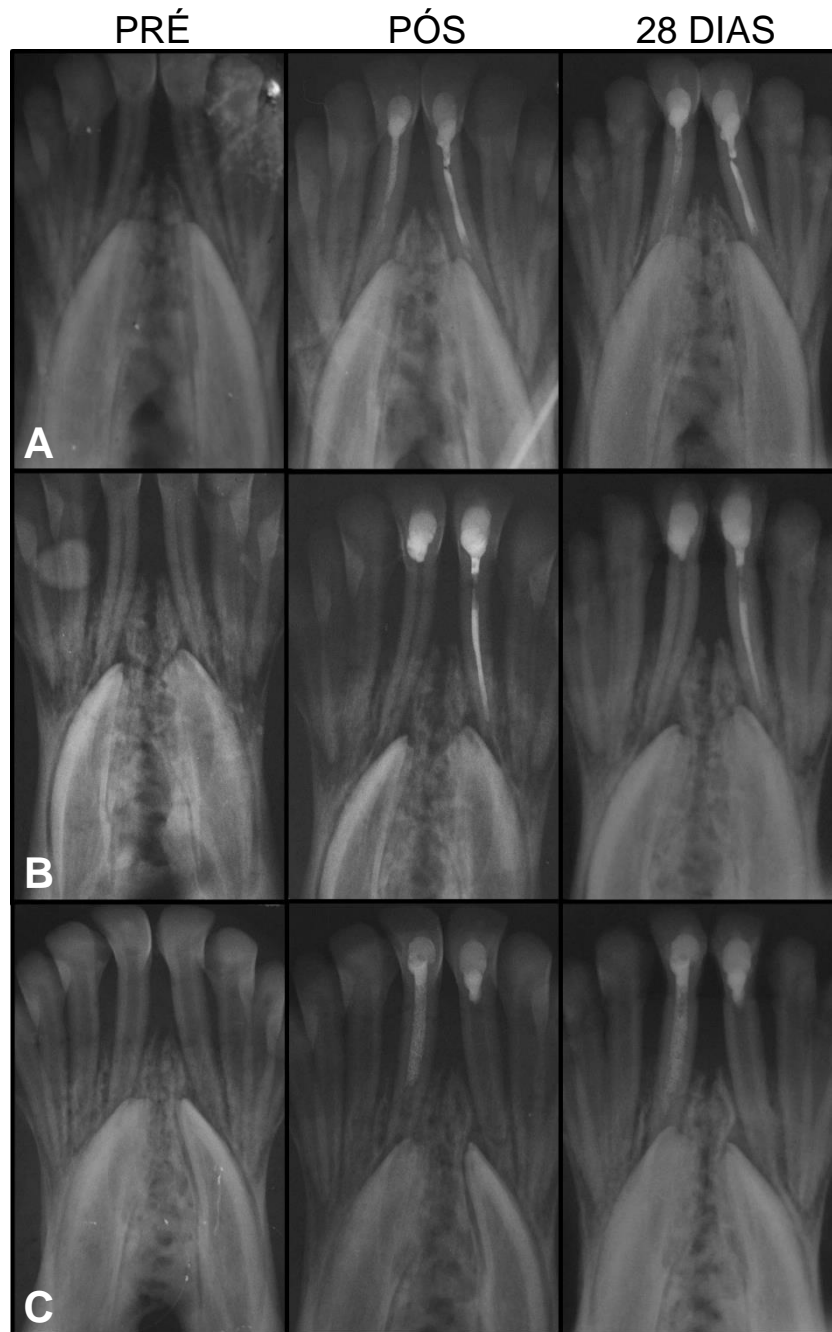
1. ALDRIGUI, J. M. *et al.* Impact of traumatic dental injuries and malocclusions on quality of life of young children. **Health and Quality of Life Outcomes**, v. 9, p. 78, 2011.
2. ALDRIGUI, J. M. *et al.* Predictive factors for pulp necrosis in traumatized primary incisors: a longitudinal study. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 23, p. 460-469, Nov. 2013.
3. ALVES, C. F. *et al.* Anti-inflammatory activity and possible mechanism of extract from *Mikania laevigata* in carrageenan-induced peritonitis. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 61, p. 1097-1104, Aug. 2009.
4. ANTONIAZZI, B. F. *et al.* Antimicrobial activity of different filling pastes for deciduous tooth treatment. **Brazilian Oral Research**, v. 29, p. 1-6, 2015.
5. BERGOLI, A. *et al.* Pulp therapy in primary teeth-profile of teaching in Brazilian dental schools. **The Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, v. 35, n. 2, p. 191-195, 2010.
6. BRASIL, Ministério da Saúde. **SB Brasil 2010 - Pesquisa Nacional de Saúde Bucal: Resultados Principais**. Disponível em: <<http://www.datasus.saude.gov.br>>. Acesso em: 17 Ago. 2015.
7. CAVALCANTI, B. C. *et al.* Genotoxicity evaluation of kaurenoic acid, a bioactive diterpenoid present in Copaiba oil. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, p. 388-392, Mar. 2006.
8. CERQUEIRA, D. F. *et al.* Cytotoxicity, histopathological, microbiological and clinical aspects of an endodontic iodoform-based paste used in pediatric dentistry: A review. **The Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, v. 32, n. 2, p. 105-110, 2007.
9. CHOI, R. J. *et al.* Inhibitory effects of kaurenoic acid from *Aralia continentalis* on LPS-induced inflammatory response in RAW264.7 macrophages. **Phytomedicine**, v. 18, p. 677-682, Jun. 2011.
10. DANG, N. H. *et al.* Inhibitory constituents against cyclooxygenases from *Aralia cordata* Thunb. **Archives of Pharmacal Research**, v. 28, p. 28-33, Jan. 2005.
11. DOMINGUES, P. F. K. **Avaliação de pastas endodônticas para dentes decíduos à base de iodofórmio com copaíba ou guaco**. 2013. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.
12. DUARTE, M. C. *et al.* Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 305-311, Feb. 2005.

13. FERREIRA, S. H. *et al.* Dental caries in 0- to 5-year-old Brazilian children: prevalence, severity, and associated factors. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 17, p. 289-296, Jul. 2007.
14. FILSTRUP, S. L. *et al.* Early childhood caries and quality of life: child and parent perspectives. **Pediatric Dentistry**, v. 25, p. 431-440, Sep-Oct. 2003.
15. FREITAS, T. P. *et al.* Effects of Mikania glomerata Spreng. and Mikania laevigata Schultz Bip. ex Baker (Asteraceae) extracts on pulmonary inflammation and oxidative stress caused by acute coal dust exposure. **Journal of Medicinal Food**, v. 11, p. 761-766, Dec. 2008.
16. FUKS, A. B. Pulp therapy for the primary and young permanent dentitions. **Dental Clinics of North America**, v. 44, p. 571-596, Jul. 2000.
17. GASPARETTO, J. C. *et al.* A kinetic study of the main Guaco metabolites using syrup formulation and the identification of an alternative route of Coumarin metabolism in humans. **PloS One**, v. 10, 2015.
18. GUEDES-PINTO, A. C. **Odontopediatria**. São Paulo: Artes Médicas, 1998.
19. GUEDES-PINTO, A. C.; PAIVA, J.G.; BOZZOLA, J.R. Tratamento endodôntico de dentes decíduos com polpa mortificada. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, v. 35, n. 3, p. 240-245, 1981.
20. IMPARATO, J. C. P.; DUARTE, D. A.; MANFRO, A. R. G. **Odontopediatria: Prática de saúde baseada em evidências**. 1st. São Paulo: Elsevier, 2012.
21. LACATIVA, A. M.; LOYOLA, A. M.; SOUSA, C. J. Histological evaluation of bone response to pediatric endodontic pastes: an experimental study in guinea pig. **Brazilian Dental Journal**, v. 23, p. 635-644, 2012.
22. LIM, H. *et al.* Anti-inflammatory activity of the constituents of the roots of *Aralia continentalis*. **Archives of Pharmacal Research**, v. 32, p. 1237-1243, Sep. 2009.
23. MIZOKAMI, S. S. *et al.* Kaurenoic acid from *Sphagneticola trilobata* inhibits inflammatory pain: effect on cytokine production and activation of the NO-cyclic GMP-protein kinase G-ATP-sensitive potassium channel signaling pathway. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 896-904, May 2012.
24. MOSKOVITZ, M.; ASHKAR, H.; HOLAN, G. Degree of root resorption after root canal treatment with iodoform-containing filling material in primary molars. **Quintessence International**, v. 43, p. 361-368, 2012.
25. MOURA-LEITE, F. R. *et al.* Impact of dental pain on daily living of five-year-old Brazilian preschool children: prevalence and associated factors. **European Archives of Paediatric Dentistry** v. 12, p. 293-297, 2011.

26. MOURAO, V. B. *et al.* Anti-hemorrhagic effect of hydro-alcoholic extract of the leaves of *Mikania glomerata* in lesions induced by *Bothrops jararaca* venom in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 29, p. 30-37, Jan. 2014.
27. ORTIZ, F. R. *et al.* Toothache, associated factors, and its impact on Oral Health-Related Quality of Life (OHRQoL) in preschool children. **Brazilian Dental Journal**, v. 25, p. 546-553, Nov-Dec. 2014.
28. PAIVA, L. A. F. *et al.* Anti-inflammatory effect of kaurenoic acid, a diterpene from *Copaifera langsdorffii* on acetic acid-induced colitis in rats. **Vascular Pharmacology**, v. 39, p. 303-307, 2003.
29. PAVASKAR, R. *et al.* An in vitro study comparing the intracanal effectiveness of calcium hydroxide- and linezolid-based medicaments against *Enterococcus faecalis*. **Journal of Endodontics**, v. 38, p. 95-100, Jan. 2012.
30. PIRES, C. W. *et al.* Induction of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity by root filling pastes used in primary teeth. **International Endodontic Journal**, v. 48, 2015.
31. PRIMOSCH, R. E. *et al.* A retrospective assessment of zinc oxide-eugenol pulpectomies in vital maxillary primary incisors successfully restored with composite resin crowns. **Pediatric Dentistry**, v. 27, p. 470-477, Nov-Dec. 2005.
32. RODD, H. D. *et al.* Pulp therapy for primary molars. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 16, p. 15-23, 2006.
33. SILVA, J. J. L. *et al.* Effects of Kaurenoic acid and Arginine on random skin flap oxidative stress, inflammation, and cytokines in rats. **Aesthetic Plastic Surgery**, v. 39, p. 971-977, Dec. 2015.
34. SILVA, L. A. *et al.* Histopathological evaluation of root canal filling materials for primary teeth. **Brazilian Dental Journal**, v. 21, p. 38-45, Jan. 2010.
35. SOARES DE MOURA, R. *et al.* Bronchodilator activity of *Mikania glomerata* Sprengel on human bronchi and guinea-pig trachea. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 54, p. 249-256, Feb. 2002.
36. VARGAS, F. S. *et al.* Biological activities and cytotoxicity of diterpenes from *Copaifera* spp. Oleoresins. **Molecules**, v. 20, p. 6194-6210, 2015.
37. YATSUDA, R. *et al.* Effects of *Mikania* genus plants on growth and cell adherence of mutans streptococci. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 183-189, Feb 28. 2005.

APÊNDICES**APÊNDICE A**

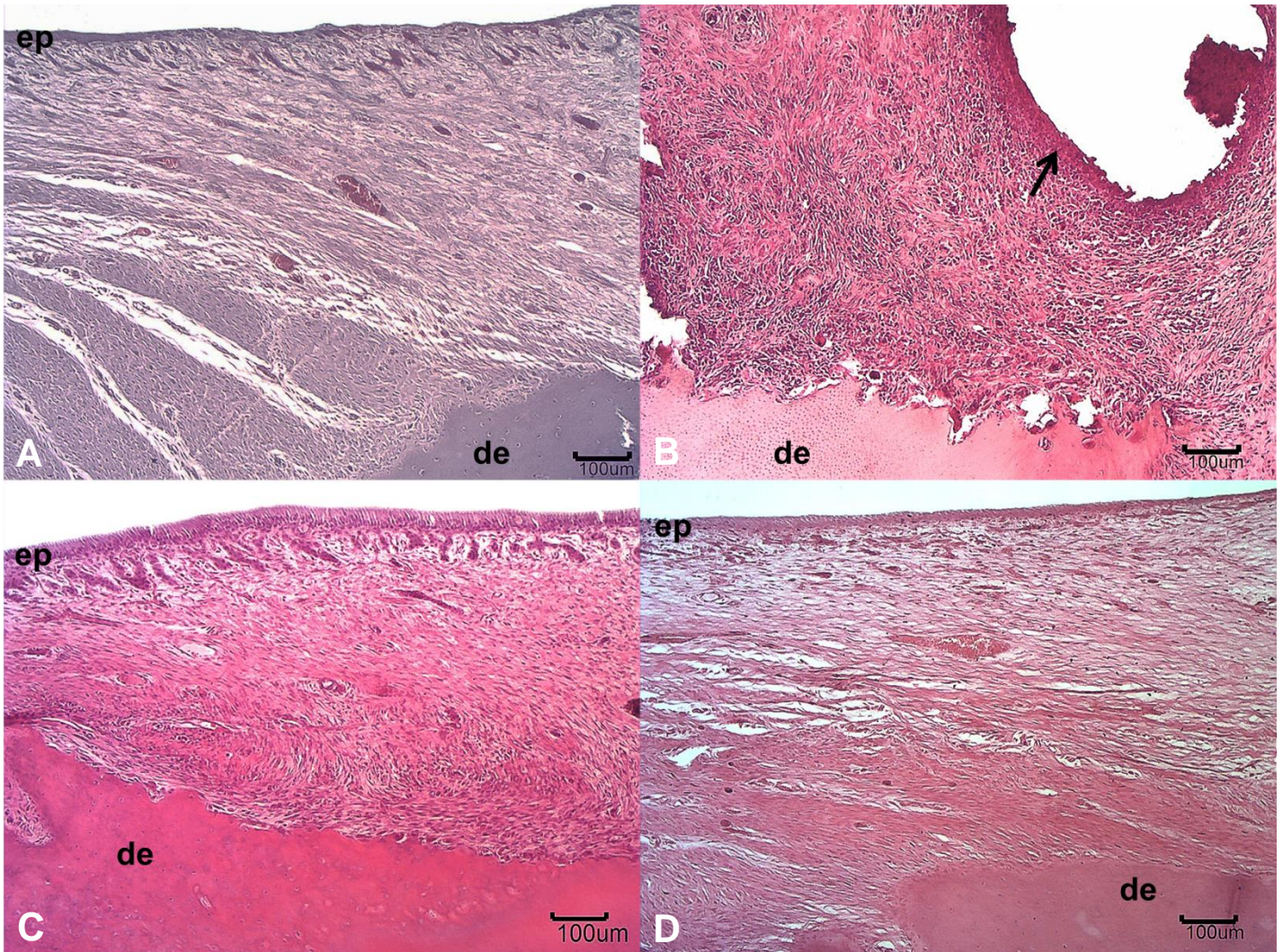
Radiografias pré, pós e após 28 dias do
procedimento endodôntico



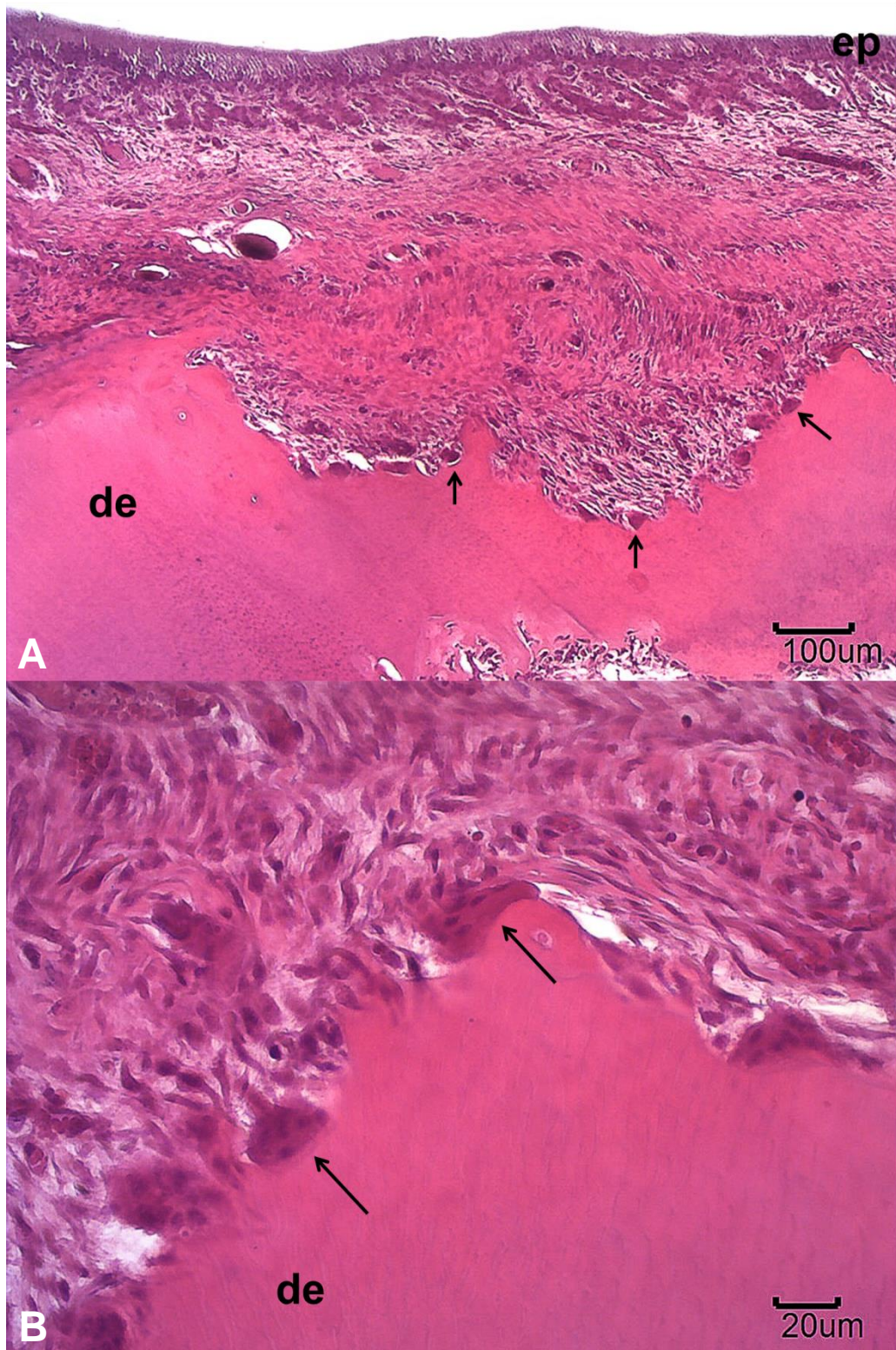
Apêndice A – Figura 1. A: ICD (incisivo central direito) – extrato de guaco; ICE (incisivo central esquerdo) – ácido caurenóico. B: ICD – vaselina; ICE - extrato de guaco. C: ICD – ácido caurenóico; ICE - vaselina.

APÊNDICE B

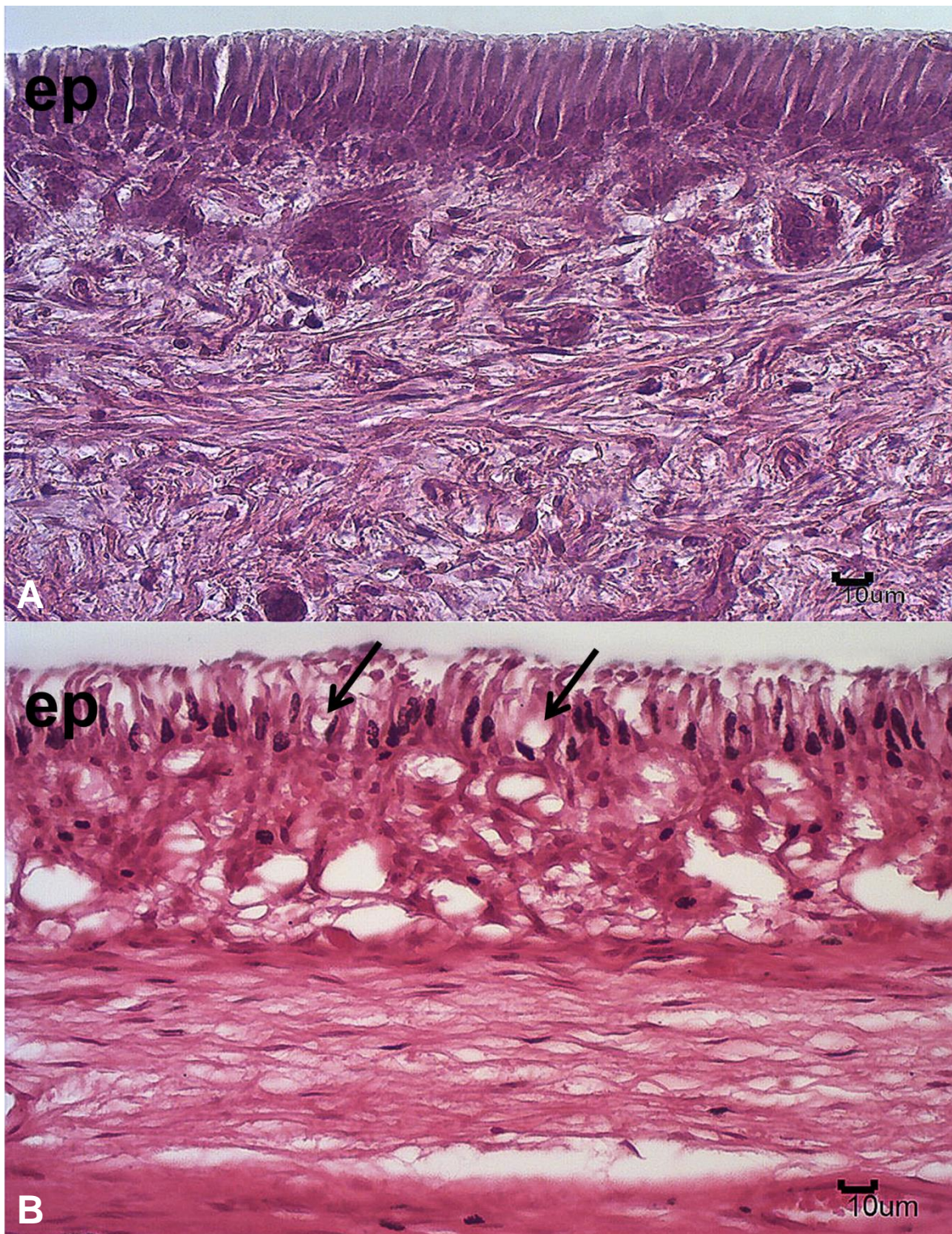
Fotomicrografia



Apêndice B – Figura 2. Fotomicrografia do periápice do dente decíduo. A: Controle negativo – animais não submetidos ao tratamento endodôntico. B: Controle positivo (pulpectomia + vaselina) – A seta indica infiltrado inflamatório intenso, abscesso e necrose periapicais. C: Animais submetidos à pulpectomia e obturação com pasta contendo iodofórmio e extrato de guaco. D: Animais submetidos à pulpectomia e obturação com pasta contendo iodofórmio e ácido caurenóico. de: Dentina radicular do dente decíduo; ep: Epitélio do esmalte do dente permanente. Coloração com Hematoxilina e Eosina, aumento de 5X.




Apêndice B – Figura 3. As setas indicam a presença de osteoclastos na raiz do dente decíduo. Animais submetidos à pulpectomia e obturação com pasta contendo iodofórmio e extrato de guaco. Coloração com Hematoxilina e Eosina, aumentos de 5X (A) e de 10X (B).



Apêndice B – Figura 4. A: Epitélio do esmalte do dente permanente com aspecto normal – ameloblastos bem organizados em paliçada. B: Desorganização e vacuolização do epitélio do esmalte – as setas indicam a presença de vacúolos nos ameloblastos, que perderam o arranjo de paliçada. Animais submetidos à pulpectomia e obturação com pasta contendo iodofórmio e extrato de guaco. Coloração com Hematoxilina e Eosina, aumento de 20X.

ANEXO

**Declaração de aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da
Universidade Estadual de Londrina**

 **Universidade
Estadual de Londrina**

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

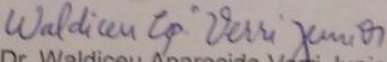
OF. CIRC. CEUA Nº 169/2014 Londrina, 05 de Novembro de 2014.

Prezado Pesquisador,

A CEUA/UEL reunida em 05 de Agosto de 2014 avaliou o projeto de pesquisa intitulado "Avaliação da biocompatibilidade de pastas para curativos endodônticos à base de óleo de copaíba e de extrato de guaco em carneiros", registrado sob o processo CEUA nº12956.2014.77, pesquisa do Centro de Ciências da Saúde, desenvolvido sob sua responsabilidade, julgando-o **aprovado** para execução, entendendo-se que os princípios éticos postulados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal estão respeitados.

Serão utilizados 40 carneiros de aproximadamente 25 kg provenientes da Fazenda Escola - UEL. O projeto tem como objetivo avaliar a biocompatibilidade de pastas endodônticas à base de óleo de copaíba e de extrato de guaco. Para tanto, os animais serão divididos em quatro grupos sendo, um grupo controle negativo, um grupo controle positivo e dois grupos submetidos a pulpectomia e tratados com pasta a base de óleo de copaíba ou pasta à base de extrato de guaco. Após o procedimento endodôntico, os animais serão medicados com dose única de dipirona sódica 50 mg/kg via subcutânea e sacrificados 14 ou 28 dias após o procedimento. Serão coletadas amostras de sangue e a mandíbula para análise histológica. O corpo do animal será destinado à comercialização da carne, em frigorífico indicado pela UEL. Os protocolos experimentais estão aprovados para execução em 18 meses a partir da sua aprovação.

Coloco-me à disposição para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessários. Sem mais para o momento, subscrevo, cordialmente,


Prof. Dr. Waldiceu Aparecido Verrini Junior
Coordenador da CEUA/UEL

Ilmo. Sr.
Prof. Dr. Edwin Fernandes Ruiz Contreras
Coordenador do Projeto
Departamento de Odontologia Restauradora
Centro de Ciências da Saúde
Com cópia para Sra. Égle Maria de Sousa (Chefe da DCA/PROPPG), Diretor da Fazenda Escola da UEL e Diretor(a) do Centro de Ciências da Saúde