



**UNIVERSIDADE DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

Análise histológica da evolução reacional do tecido pulpar frente à ação das pastas à base de hidróxido de cálcio, extrato padronizado de própolis e da associação delas, utilizando suínos como modelo experimental

José Estevan Ozorio

Orientador: *Prof. Dr. Danyel Elias da Cruz Perez*

Co-orientador: *Prof. Dr. Luiz Fernando O. S. Carvalho*

Ribeirão Preto
2007

Banca Examinadora

Prof. Dr. Danyel Elias da Cruz Perez (Presidente)

Professor Titular do Curso de Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP

Prof. Dr. Manoel D. Sousa Neto

Professor Associado do Deptº de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - FORP – USP

Prof. Dr. Mario Tonomaru Filho

Professora Titular do Deptº de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

Data da defesa: 26/04/2007

José Estevam Vieira Ozorio

Análise histológica da evolução reacional do tecido pulpar frente à ação das pastas à base de hidróxido de cálcio, extrato padronizado de própolis e da associação delas, utilizando suínos como modelo experimental

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia, sub-área Endodontia.

Orientador: *Prof. Dr. Danyel Elias da Cruz Perez*

Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando O. S. Carvalho

Ribeirão Preto
2007

Ficha catalográfica preparada pelo Centro de Processamento Técnico da
Biblioteca Central da UNAERP

- Universidade de Ribeirão Preto-

Ozorio, Jose Estevam Vieira, 1977-

Análise histológica da evolução reacional do tecido pulpar frente à ação das pastas à base de hidróxido de cálcio, extrato padronizado de própolis e da associação delas, utilizando suínos como modelo experimental / José Estevam Vieira Ozorio. – Ribeirão Preto, 2007.

91 f. : + anexo

Orientador: Prof. Dr. Danyel Elias da Cruz Perez, Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando O. S. Carvalho.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto, UNAERP, Odontologia, área de concentração: Endodontia, 2007.

1. Pulpotomia. 2. Dentina. 3. medicamentos. I. Título.

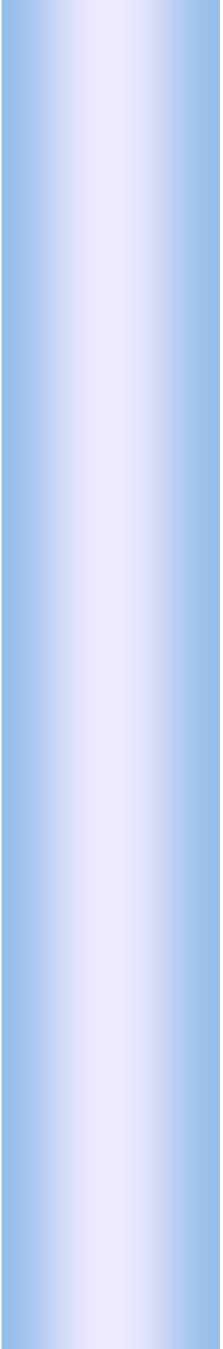
CDD: 617.645



Universidade de Ribeirão Preto



Este trabalho foi realizado no Serviço de Patologia da Universidade de Ribeirão Preto e no Laboratório de Pesquisas em Suínos da Universidade Estadual Paulista em Jaboticabal, com o apoio financeiro da CAPES-Bolsa PROSUP, Convênio PROSUP – 012/2002-5.



Dedicatória

A **DEUS**, por me abençoar e me dar força para prosseguir minha vida com alegria e esperança, e por estar sempre guiando meus caminhos.

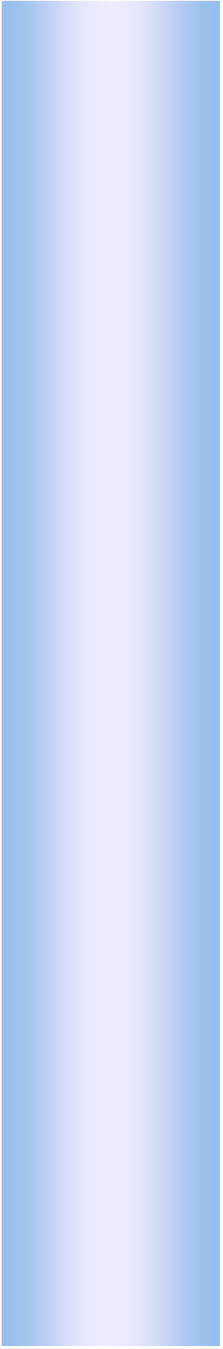
Aos Meus Pais:

Angelita Vieira R. Ozorio e **Carlos Alberto R. Ozório**, dedico toda esta dissertação, já que tudo o que sou, eu devo à vocês.

Ao Meu Irmão:

Carlos Vicente Vieira R. Ozorio (*in memoriam*)

Em todos os passos de minha vida jamais esquecerei de ti, mesmo não estando ao meu lado, pois tu sempre estará em meu coração.



Agradecimentos

Ao meu orientador e amigo, ***Prof. Dr. Danyel Elias da Cruz Perez***, pela dedicação, solicitude, respeito e competência, forma com a qual me conduziu neste estudo. E pelos conhecimentos transmitidos no decorrer desta pesquisa.

À coordenadora da Pós-Graduação do curso de Odontologia **Profª. Drª. Yara Teresinha Corrêa Silva Sousa**, por participar da minha formação como mestre, pelos valiosos ensinamentos, pela educação e simplicidade.

Ao **Prof. Dr. Manoel D. de Sousa Neto**, pelo exemplo de dedicação, perseverança e competência, pelos ensinamentos ao aprimoramento profissional e intelectual e pela confiança, à mim atribuída.

Ao **Prof. Dr. Luiz Fernando O. S. Carvalho**, da Universidade Estadual Paulista (UNESP – Jaboticabal), meu co-orientador, que colaborou para a realização experimental deste trabalho.

À **Profª. Drª. Maria Cristina Thomaz**, da Universidade Estadual Paulista (UNESP – Jaboticabal), quem me acolheu e sempre mostrou-se solícita na minha caminhada.

Ao **Curso de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP**, que possibilitou minha capacitação e aprimoramento intelectual e profissional.

Ao diretor geral da Apis Flora, **Manoel Eduardo Tavares Ferreira**, conhecedor e empreendedor da própolis na área de saúde, que cordialmente forneceu o produto utilizado neste estudo e sempre esteve pronto à atender nossos pedidos.

À farmacêutica responsável da Apis Flora, **Prof^a Andresa Aparecia Berretta**, que foi sempre solícita e contribuiu muito na realização deste estudo.

Ao amigo **Prof. Danilo Alessandro de Oliveira**, por ser o grande incentivador à minha ingressão científica e por ter sempre me ajudado durante esta dissertação.

À **Prof^a. Melissa Andréia Marchesan**, pelos conhecimentos científicos transmitidos, por me ensinar a pesquisar e pela ajuda na realização deste trabalho.

Ao **Prof. Edson Alfredo**, pela amizade, pelo apoio e ajuda a ultrapassar as dificuldades com perseverança e dedicação.

Ao **Prof. Celso Bernardo de Souza Filho**, pela amizade, ensinamentos em estatística e pela agradável convivência .

Aos professores **José Antônio Brufato Ferraz, José Carlos Dal Secco Leandrini, Aline Evangelista de Sousa** pelos ensinamentos e palavras de incentivo.

Ao mestrando em Clínica Médica Veterinária, **Guido Carlos Iselda Hermans Masson**, da Universidade Estadual Paulista (UNESP – Jaboticabal), meu amigo, que não mediu esforços para me ajudar na realização desta dissertação. Sou imensamente grato.

Ao amigo **Sebastião de Oliveira**, pela grande contribuição na produção desta dissertação e pelos inesquecíveis momentos de descontração e reflexão.

Ao amigo **Douglas Antônio Fernandes da Silva**, pela ajuda em ceder materiais que foram de fundamental importância na realização experimental desta dissertação.

Aos amigos **Alcides Gomes da Silva, Felipe Barros Matoso e Fuad Jacob Abi Rached Jr**, que sempre estiveram solícitos e me ajudaram em vários momentos desta dissertação.

Ao amigo **Alessandro Rogério Giovani**, pela gentileza, por sempre mostrar-se solícito.

À **Lívia Maria Rodrigues**, pela amizade e pela ajuda em momentos difíceis na realização desta dissertação.

Ao amigo **Volmir João Fornari**, pelas palavras de incentivo e pelo convívio durante o curso de mestrado.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação em Odontologia, sub-área Endodontia: **Prof. Dr. Manoel D. de Sousa Neto, Prof^a. Dr^a. Yara T. Corrêa Silva Sousa, Prof. Dr. Antônio Miranda da Cruz Filho, Prof^a. Dr^a. Neide Aparecida Souza Lehfeld, Prof. Dr. Luis Pascoal Vansan, Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva, Prof. Celso Bernardes Souza Filho, Prof. Ms. Edson Alfredo, Prof. Renato Cássio Roberto, Prof. Dr. Lucélio Bernardes Couto e Prof^a. Dr^a. Lisete Diniz Ribas Casagrande, Prof^a. Dr^a. Rosemary Cristina Linhares R. Pietro.**

Aos colegas de turma de mestrado, **Alessandro Rogério Giovani, Alexandra Gonçalves, André Marcussi Lara, Charles Stefani Moreira Alencar, Fábio Henrique Pasqualin, Fernando Carneiro Ribeiro, Gisele Aihara Haragushiku, João Gonçalves Júnior, Larissa Lustosa Lima Dias, Marcos Arantes Marino, Priscila de Oliveira da Silva, Sylvia Maria Bin Nomelini e Volmir João Fornari.**

À **Cecília Maria Zanferdini e Joana Néia Vieira** secretárias da Pós-Graduação e aos secretários do Curso de Odontologia **Marina Janólio Ferreira,**

Valéria Rodrigues da Silva e Vinícius Bianchi de Castro, pela amizade, pela dedicação e seriedade que realizam os seus trabalhos.

Aos funcionários da Clínica de Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP, **Fábio Juliano do Santos, Fabíola Domenes de Sousa, Sérgio Pereira de Mendonça, Luciana Antico da Silva, Joceli Aparecida L. P. Lima, Judite Azevedo Silva, Regina Lúcia Ramos, Juliana Volgarini, Ana Carolina Dias, Ana Paula Jacomoni, Lúcia Helena Bianchi, Cláudio de Paula Joaquim, Simone Andréa D. G. Baroni, Máira Botelho e Evaldo Antonio Evangelista**, amizade, pela gentileza, pelo respeito e a disposição em sempre ajudar durante o curso de Pós-graduação.

À funcionária **Rosemary Alexandre**, do Serviço de Patologia da Universidade de Ribeirão Preto, que colaborou para a realização deste trabalho.

À Minha Tia:

Lêda Paes Rezende, que acompanhou meus caminhos estando presente nos momentos difíceis, e suas palavras de carinho e incentivo sempre me deram forças para seguir em frente.

À Minha Namorada:

Erika Angelino Bronze de Souza, pelo amor, apoio, incentivo, compreensão e por estar ao meu lado transmitindo paz e equilíbrio.



Sumário

SUMÁRIO

RESUMO

SUMMARY

| | |
|---------------------------------|----|
| INTRODUÇÃO..... | 01 |
| REVISTA DA LITERATURA..... | 08 |
| PROPOSIÇÃO..... | 37 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 39 |
| RESULTADOS..... | 51 |
| DISCUSSÃO..... | 66 |
| CONCLUSÕES..... | 77 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 80 |

ANEXO



Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar microscopicamente a reação do tecido pulpar, em dentes pulpotomizados de suínos, frente à ação das pastas à base de hidróxido de cálcio, extrato padronizado de própolis a 80% e à associação delas. Foram utilizados 9 suínos machos, com peso variando entre 75 a 100 kg e idade média de 140 dias. Os animais foram aleatoriamente distribuídos em três grupos experimentais, de acordo com os períodos de análise: 7, 21 e 42 dias. Os dentes utilizados para o procedimento de pulpotomia foram os quatro incisivos decíduos inferiores, que se apresentavam íntegros, sendo que em todos os períodos experimentais o incisivo lateral esquerdo não recebeu nenhuma pasta (controle), o incisivo central esquerdo recebeu a pasta de extrato padronizado de própolis a 80%, o incisivo central direito a pasta de hidróxido de cálcio e o incisivo lateral direito a associação das duas pastas. Após os períodos determinados, os animais foram sacrificados e os dentes removidos para processamento e análise histológica. Em todos os períodos de estudo, observou-se, no tecido pulpar reação inflamatória crônica leve, exceto no grupo do hidróxido de cálcio, que aos 7 dias apresentou reação inflamatória crônica moderada. Após 42 dias todos os grupos, exceto o controle, apresentaram a formação de barreira de tecido mineralizado, que recobria o tecido pulpar exposto. Concluiu-se que, as pastas de extrato padronizado de própolis a 80% e da associação entre hidróxido de cálcio e extrato padronizado de própolis a 80%, mostraram-se eficientes na indução da formação de barreira de tecido mineralizado e manutenção da vitalidade do tecido pulpar quando utilizadas em pulpotomia em dentes decíduos suínos.



Summary

The aim of this study was to assess microscopically the pulp tissue of swine teeth submitted to pulpotomy with calcium hydroxide, standardized propolis extract (80%) and the association between calcium hydroxide and standardized propolis extract (80%). Nine male swine, with weight ranging from 75 to 100 kg and mean age of 140 days, were used for the study. The animals were randomly distributed in 3 experimental groups with 3 animals each, according to the periods of study of 7, 21 and 42 days. The teeth used for the pulpotomy were the four lower primary incisors, where in all experimental periods the left lateral incisor did not receive any substance (control), the left central incisor received the standardized propolis extract (80%), the right central incisor the calcium hydroxide and the right lateral incisor the association between the two tested substances. After the determined periods of study, the animals were killed and the teeth removed for histological analysis. In all periods of time, it was observed a mild chronic inflammatory reaction in the pulp tissue, except the calcium hydroxide group, which after 7 days presented a moderate chronic inflammatory reaction. After 42 days of the procedure, all groups presented the formation of a hard tissue barrier that recovered all pulp tissue, except the control group. In conclusion, the standardized propolis extract (80%) and the association between calcium hydroxide and standardized propolis extract (80%) were able to form a hard tissue barrier and to maintain the vitality of the pulp tissue of swine deciduous teeth submitted to pulpotomy.



Introdução

A polpa dentária é um tecido bem vascularizado e innervado, capaz de reagir a diversos estímulos, físicos, químicos ou biológicos e, conseqüentemente, alcançar um reparo adequado, com formação de barreira mineralizada (ALBUQUERQUE et al., 2006). Se o estímulo ou dano forem intensos, a polpa dentária eventualmente não consegue o reparo, estabelecendo a necrose de todo o tecido pulpar. Entretanto, se há discreta exposição do tecido pulpar em um dente decíduo ou permanente jovem, há procedimentos que podem ser realizados para tentar restabelecer a saúde pulpar e manter sua vitalidade (HUTH et al., 2005; MARKOVIC et al., 2005; ALBUQUERQUE et al., 2006).

A polpa exposta é definida no site do MeSH (Index Medicus: Medical Subject Headings) como o resultado de alterações patológicas no tecido duro de um determinado dente, causadas por cárie, fatores mecânicos ou trauma, os quais deixam a polpa susceptível à invasão bacteriana do ambiente externo. O tratamento empregado numa polpa exposta deve ter como objetivo o seu completo reparo e favorecer a formação de barreira de tecido duro que recubra totalmente o tecido pulpar exposto (OLSSON et al., 2006).

A pulpotomia é um procedimento utilizado e indicado principalmente em dentes decíduos e permanentes jovens, onde há amputação da polpa coronária que se apresenta inflamada e/ou infectada e inserção de um agente protetor sobre o restante do tecido pulpar viável, a fim de permitir a manutenção tanto da sua

vitalidade quanto da sua função (RANLY; GODOY-GARCIA, 2000; HUTH et al., 2005; MARKOVIC et al., 2005).

Uma série de medicamentos tem sido empregada no recobrimento do tecido pulpar exposto durante a pulpotomia. Entre os mais freqüentemente utilizados estão o formocresol, o hidróxido de cálcio, e atualmente, o agregado de trióxido mineral (CENGIZ et al., 2005; HUTH et al., 2005; ALBUQUERQUE et al., 2006; OLSSON et al., 2006; TUNÇ et al., 2006), sendo que o hidróxido de cálcio e o agregado de trióxido mineral estão associados à formação de uma barreira de tecido duro mineralizado (HUTH et al., 2005; ALBUQUERQUE et al., 2006; TUNÇ et al., 2006).

Dentre as variadas substâncias indicadas para a pulpotomia, o hidróxido de cálcio é o que evidencia os melhores resultados até o presente momento, e a literatura demonstra que ele favorece a reparação do tecido pulpar lesado e estimula a formação de barreira de tecido mineralizado (WAKABAYASHI et al., 1993; ALBUQUERQUE et al., 2006; TUNÇ et al., 2006).

Quando o hidróxido de cálcio é colocado em contato direto com o tecido pulpar ocorre uma reação tecidual imediata e de curta duração atribuída à sua elevada alcalinidade. Este efeito alcalino é decorrente da liberação de ions hidroxila que em contato direto com tecido vivo, provocam alterações morfológicas caracterizadas histologicamente em sua fase inicial, pela presença de zona de necrose superficial auto-limitante (SCHRODER, 1985). Além disso, segundo CVEK

(1972), o meio alcalino impede a proliferação bacteriana, sendo de fundamental importância já que a reparação tecidual e a deposição de tecido mineralizado somente ocorrem em ausência de processo infeccioso.

Entretanto, alguns autores afirmam que o elevado pH é potencialmente tóxico ao tecido pulpar e tende a dissolver o tecido mole, o que leva à inflamação pulpar crônica e necrose de células *in vivo*. Além disso, estudos clínicos revelam aumento da taxa de insucesso à medida que o tempo de seguimento é mais longo (OLSSON et al., 2006). Uma possível causa para esse prognóstico incerto em longo prazo, é que a barreira de tecido duro não tenha sido formada de maneira adequada ou que essa eventual neo-formação de tecido duro não seja eficiente como uma barreira funcional à penetração e contaminação bacteriana oriunda de micro-infiltrações em margens de restaurações (SAFAVI; NICHOLS, 1994; OLSSON et al., 2006).

Atualmente, com o incremento dos estudos na área da fitoterapia, em especial a apifitoterapia, inserida em programas que visam à cura e a prevenção de várias afecções, tem-se estudado a aplicação de diferentes extratos naturais principalmente com finalidade antimicrobiana, antiinflamatória e reparadora (KHAYYAL et al., 1993; BRETZ et al., 1998; KOO et al., 2000; SILVA et al., 2004; SILICI et al., 2005; TAN-NO et al., 2006; MACHADO et al., 2007). Assim, a Odontologia não poderia se abster desta nova perspectiva de tratamento, que

adota o uso de medicamentos naturais, de menor custo e menos agressivos ao organismo (MANARA et al., 1999).

A própolis é uma substância resinosa de coloração e consistência variada coletada por abelhas, de diversas partes da planta, tais como brotos, botões florais e exsudatos resinosos, encontrada nas colméias, onde tem a função de impermeabilização, isolamento térmico e vedação (MANARA et al., 1999). Seu uso na Medicina e Farmacologia vem desde os primórdios da civilização egípcia (OLIVEIRA, 2004; SALATINO et al., 2005).

Em relação às estruturas químicas que compõem a própolis, muitas delas são conhecidas, tais como álcoois, aldeídos, ácido alifáticos, ésteres alifáticos, aminoácidos, ésteres aromáticos, cetonas, ácidos graxos, além de vitaminas B1, B2, B6, C, E, prata, lantânio, antimônio, cobre, manganês, ferro, cálcio, alumínio e silício (MANARA et al., 1999).

A essa substância, se atribui atividade antibacteriana devido à presença de flavonóides, ácidos aromáticos e ésteres; ação bactericida pelos ácidos ferúlico e cafeico; atividade antiviral devido à presença e ação de flavonóides e derivados de ácidos aromáticos; atividade anti-fúngica; além de ação anti-ulcerativa, imunostimuladora, hipotensiva e citostática (MANARA et al., 1999; FERNANDES JUNIOR et al., 2005; SILICI et al., 2005; BRAILO et al., 2006; ONCAG et al., 2006). Como agente antiinflamatório, é observado que a própolis inibe a síntese de prostaglandinas (KOO et al., 2000; TAN-NO et al., 2006). Além dessas

características, é pouco irritante ao tecido subcutâneo de ratos (OLIVEIRA, 2004) e fibroblastos quando em concentrações de 4 mg/ml ou inferiores (AL-SHAHER et al., 2004).

Diante dos benefícios e vantagens relatados na literatura, a própolis pode ser indicada no tratamento de doenças relacionadas às várias especialidades da Odontologia. Assim, alguns estudos já foram realizados para verificar a ação e a aplicação da própolis em patologias odontogênicas, além de testar seu potencial em acelerar o processo de reparo em feridas cirúrgicas e ulcerações aftosas recorrentes (MANARA et al., 1999; SAMET et al., in press). No entanto, poucos estudos foram realizados para avaliar seu uso na Endodontia, como medicação intra-canal, solução irrigante ou como medicamento para pulpotomia (BRETZ et al., 1998; AL-SHAHER et al., 2004; SILVA et al., 2004; SABIR et al., 2005; ONCAG et al., 2006).

Uma das dificuldades observadas nos estudos que utilizam a própolis diz respeito à sua composição química, que varia de acordo com a região onde a mesma é coletada em função da flora existente nas mediações do apiário e do material coletado pelas abelhas, gerando problemas na padronização do produto (BANKOVA, 2005; SALATINO et al., 2005).

Desta maneira, BANKOVA (2005) propôs a caracterização da própolis pela quantidade total de flavonóides, de flavonas, de di-hidroflavonol e de conteúdos fenólicos tentando facilitar os estudos com o produto e permitir aos pesquisadores

correlacionar determinadas características químicas às atividades biológicas específicas.

Assim, a utilização de um produto padronizado, com substâncias e suas concentrações definidas, mantém a estabilidade química e permite a obtenção de sua reprodutibilidade lote a lote (BERRETTA, 2003). Dessa maneira, foi desenvolvida uma fórmula que contempla quantidades definidas de própolis de várias regiões do Brasil com princípios ativos ou marcadores como a *Artepelin-c*, *Bacharina*, *Ácido p-cumárico* e *Drupanin*, sendo essas substâncias avaliadas e monitoradas quali-quantitativamente. Esta fórmula, designada como Extrato padronizado de própolis – EPP – AF, foi produzida pela Apis Flora (Ribeirão Preto, SP, Brasil) e encontra-se em processo de patente, no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), sob o número PI 0405483.

A realização de estudos para comprovação da atividade antiinflamatória, antimicrobiana e reparadora do extrato padronizado de própolis – EPP - AF é necessária para sua validação e para verificação da sua viabilidade na terapêutica endodôntica.



Revista da Literatura

Para melhor entendimento, a revista de literatura será dividida em duas partes: a primeira abordará o procedimento de pulpotomia e os diversos materiais utilizados nesse procedimento, principalmente o hidróxido de cálcio; a segunda, versará sobre a própolis e suas diversas propriedades biológicas.

1. Pulpotomia

JEAN et al. (1988) utilizaram fosfato tricálcico associado à hidroxiapatita em pulpotomias realizadas em dentes de porcos e verificaram a existência de pontes de dentina, com deposição mais rápida e mais espessa que a do próprio hidróxido de cálcio quando usado isoladamente.

WAKABAYASHI et al. (1993) afirmaram que o hidróxido de cálcio quando aplicado à polpa exposta, promove a formação de barreira precipitada. Por debaixo desta barreira ocorre a migração, proliferação e diferenciação de células pulpares, havendo deposição de nova camada de dentina pelos odontoblastos. A presença dos íons hidroxila mantém uma condição local de alcalinidade necessária para a divisão celular e formação de uma matriz. Os íons hidroxila são também responsáveis pela necrose inicial.

WILKERSON et al. (1996) avaliaram os efeitos clínicos, radiográficos e histológicos do laser de argônio HGM PC Oralase em polpas vitais de dentes suínos. Pulpotomias foram realizadas em 42 dentes decíduos de três porcos jovens e observados após 7 ou 60 dias. Para cada período experimental, nove dentes

receberam uma dose de laser de argônio de 1 W, 2 segundos ($24,88 \text{ J/cm}^2$) e nove dentes receberam 2 W, 2 segundos ($49,74 \text{ J/cm}^2$). Os controles consistiram de três dentes para cada período de estudo e não foram expostos ao laser de argônio. Não havia diferenças significativas entre as duas densidades de energia com relação aos aspectos clínicos, radiográficos e histológicos nos dois períodos de estudo. Formação de dentina reparadora foi observada histologicamente em 9 dentes após 7 dias e em 13 dentes após 60 dias, sendo que em todos os dentes a vitalidade pulpar foi mantida, independente do tempo de estudo. Assim, com esses resultados, o uso do laser de argônio nos parâmetros descritos nesse estudo aparentemente não causa alterações no tecido pulpar.

JEPSEN et al. (1997) investigaram a possível indução de formação de dentina reparadora pela proteína osteogênica humana recombinante 1. Para este estudo, foram utilizados 16 dentes de 4 porcos miniatura adultos, onde os dentes tiveram os tecidos pulpares expostos, os quais foram tratados com 3 mg de um complexo de proteína osteogênica humana recombinante 1 em matriz de colágeno ($2,5 \mu\text{m/mg}$), matriz de colágeno isolada ou pasta de hidróxido de cálcio. Os dentes foram removidos em bloco após 5 semanas dos procedimentos. Os dentes foram descalcificados, processados e analisados histologicamente. Nos dentes tratados com a proteína osteogênica humana recombinante 1, quantidade significativa de tecido duro (osteodentina e dentina tubular) levaram ao completo recobrimento do tecido pulpar exposto. Após aplicação da pasta de hidróxido de

cálcio, menor formação de dentina foi observada. Nos dentes tratados somente com matriz de esmalte, pontes de dentina não foram observadas recobrando o tecido pulpar exposto. Os autores concluíram que a proteína osteogênica humana recombinante 1 em uma matriz de colágeno aparentemente é uma substância bioativa efetiva para o tratamento de tecido pulpar exposto.

PERILLO et al. (1998) compararam a hidroxiapatita e o hidróxido de cálcio como substâncias para capeamento pulpar em pré-molares humanos submetidos à pulpotomia. Os autores utilizaram 24 pré-molares hígidos, distribuídos em 3 grupos com 8 dentes cada. O período de estudo foi de 40 dias, após os quais, os dentes foram extraídos, fixados, radiografados e submetidos à avaliação histopatológica das reações pulpares. O grupo I, onde foi utilizado o hidróxido de cálcio associado ao soro fisiológico, apresentou radiográfica e histologicamente, a formação de uma barreira mineralizada e tecido conjuntivo pulpar com características de normalidade, respectivamente. O grupo II e o grupo III, onde foi utilizada a hidroxiapatita associada a soro fisiológico e a hidroxiapatita + glicina, respectivamente, apresentaram como característica principal a difusão do material para o interior do tecido pulpar, sendo que no grupo III este fato foi mais intenso. Os autores concluíram que dentre as substâncias estudadas, o hidróxido de cálcio é o material de eleição para pulpotomia em dentes permanentes jovens. A hidroxiapatita não induziu a formação de tecido mineralizado na maioria dos casos.

STOCKTON (1999) em uma revisão sobre pulpotomia, relatou que apesar do progresso na área da biologia pulpar, a técnica e a filosofia do capeamento pulpar direto permanecem controversas. Muito se sabe sobre os resultados e do sucesso em longo prazo do tratamento endodôntico, mas pouco sobre a pulpotomia. Pesquisas demonstram que polpas expostas podem ser reparadas e formar a dentina terciária; entretanto, a variabilidade do prognóstico do capeamento pulpar na polpa vital está diretamente ligada ao processo restaurador e aos materiais utilizados para tal procedimento.

RANLY; GARCIA-GODOY (2000) avaliaram terapias atuais de capeamento pulpar indireto, capeamento pulpar direto, pulpotomias e pulpectomias em dentes permanentes jovens e evidenciaram que estes procedimentos estão cada vez mais freqüentes entre os clínicos, sendo o hidróxido de cálcio e o formocresol os materiais mais utilizados. Entretanto, esses procedimentos podem ser futuramente substituídos por outros tratamentos químicos (novos adesivos), eletrocauterização (laser) e estimulação de dentina reparadora por fatores de crescimento. Estas terapias podem eventualmente transformar completamente esta filosofia de tratamento.

MURRAY et al. (2002) avaliaram, após a exposição pulpar em dentes de primatas, os eventos envolvidos na reparação pulpar promovida pela produção de dentina reparadora por células semelhantes à odontoblastos (*odontoblastos-like*). Realizou-se capeamento pulpar com hidróxido de cálcio e adesivo dentinário

associado a um *primer* e avaliação em períodos de 3 a 60 dias. Concluiu-se que a dentina reparadora formada está diretamente relacionada ao número de células semelhantes à odontoblastos formadas e ao tempo de estudo, e que o número de células é muito menor do que os odontoblastos originais, o que explica a dificuldade de reparo pulpar pós-exposição.

NAKAMURA et al. (2002) avaliaram se a matriz derivada de esmalte induz a formação de dentina reparadora em dentes pulpotomizados de porcos miniatura. Para o estudo, pulpotomia foi realizada em 36 incisivos mandibulares de 11 porcos miniatura adultos. Após o procedimento, o tecido pulpar exposto foi tratado com matriz derivada de esmalte ou recoberto com hidróxido de cálcio. Após 3, 4 e 8 semanas, os dentes foram extraídos e avaliados histologicamente. Nos dentes tratados com matriz derivada de esmalte, foi observada quantidade significativa de dentina reparadora que recobria completamente todo o tecido pulpar exposto. A quantidade total de dentina reparadora formada nos dentes tratados com matriz derivada de esmalte foi significativamente maior que nos dentes tratados com hidróxido de cálcio. Os autores concluíram que a matriz derivada de esmalte é um agente biológico que apresenta grande potencial na indução da formação de dentina reparadora em dentes pulpotomizados, sem afetar a função normal do remanescente pulpar.

DOMINGUEZ et al. (2003) estudaram os aspectos morfológicos da polpa, após capeamento pulpar com hidróxido de cálcio, adesivo dentinário associado à

primer-ácido e agregado de trióxido mineral. Para o estudo, foram utilizados 15 cães, onde seis animais foram sacrificados aos 50 dias e nove após 150 dias do procedimento. Amostras de 11 cães foram avaliadas por microscopia de luz e as restantes foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura. Os autores concluíram que, histologicamente o agregado de trióxido mineral foi um material consideravelmente melhor que o hidróxido de cálcio que o adesivo dentinário associado a um primer-ácido na manutenção da integridade pulpar.

CONRADO (2004a) verificou uma possível remineralização da dentina cariada humana. Para o estudo, foram utilizados trinta e nove dentes permanentes e decíduos recém-extraídos. Cada dente foi dividido em duas metades, onde uma metade foi usada como controle e a outra como experimental. Nesta última, uma cavidade foi preparada e a camada remanescente de dentina desmineralizada foi capeada com hidróxido de cálcio quimicamente puro. As amostras experimentais foram armazenadas em estufa a 37°C. Os períodos de observação foram de 2, 4, 6, 8, 10 e 12 semanas. Todas as metades foram desgastadas até conseguir cortes plano-paralelos com espessuras variando entre 75 e 117 µm. Microrradiografias qualitativas evidenciaram um aumento na radiopacidade das amostras tratadas com hidróxido de cálcio. A microrradiografia quantitativa evidenciou um aumento estatisticamente significativo no conteúdo mineral total nas amostras experimentais comparadas com as controles. Os resultados indicaram uma remineralização *in vitro* da dentina cariada através do hidróxido de cálcio.

CONRADO (2004b), estudou *in vivo* uma possível remineralização da dentina cariada humana. Oitenta e seis amostras de dentina cariada foram estudadas, removidas de 36 dentes permanentes de 24 pacientes e divididas em não-tratadas (controles) e capeadas com hidróxido de cálcio quimicamente puro (experimentais). Os períodos de observação foram entre 10 e 120 dias. As dentinas cariadas foram classificadas levando-se em conta a profundidade e grau de amolecimento dentinário e avaliadas em relação ao peso, concentração de fósforo, microradiografias qualitativas e quantitativas e valores absolutos de conteúdo mineral total. As amostras experimentais foram examinadas ao microscópio óptico e um aumento qualitativo em radiopacidade foi observado. Quantitativamente, foi mostrado que, no caso das amostras analisadas para concentração de fósforo, a média das diferenças em aumento de porcentagens após tratamento foi de 9.56%, enquanto que para as amostras avaliadas microradiograficamente o aumento do conteúdo mineral total foi de 22.29%. Em ambos os casos, as diferenças registradas foram estatisticamente significantes.

NAKAMURA et al. (2004) examinaram a expressão de proteínas relacionadas à dentina durante a formação de dentina reparadora, após pulpotomia realizada em incisivos de porcos, utilizando matriz derivada de esmalte. As pulpotomias foram realizadas em 72 incisivos inferiores de 24 porcos adultos. O tecido pulpar exposto foi tratado com matriz derivada de esmalte ou pasta de hidróxido de cálcio (Dycal). Após os períodos de estudo pré-definidos, que variaram e de 4 dias a 12

semanas, os dentes foram extraídos e posteriormente avaliados microscopicamente. As polpas foram avaliadas por imunoistoquímica utilizando anticorpos contra proteínas relacionadas à dentina. Em todos os dentes tratados com matriz derivada de esmalte, foi observada grande formação de dentina reparadora, significativamente maior que nos dentes tratados com pasta de hidróxido de cálcio ($p < 0.005$). Hidróxido de cálcio também foi menos efetivo na formação da ponte dentinária que recobria o tecido pulpar exposto. O estudo imunoistoquímico demonstrou que a matriz derivada do esmalte estava presente no local onde foi aplicada em quantidades detectáveis após 4 semanas do procedimento. Além disso, nas primeiras 2 semanas após o procedimento, foi detectada forte expressão de proteínas relacionadas à dentina no tecido pulpar exposto. Os autores concluíram que a matriz derivada de esmalte induz um rápido reparo pulpar em dentes pulpotomizados e sugerem que a presença continuada de macromoléculas de matriz derivada de esmalte no local de aplicação pode estimular o reparo e o crescimento da dentina, com resultado clínico favorável.

CENGIZ et al. (2005) estudaram o potencial de um bifosfonato, o alendronato de sódio, para estimular a formação de tecido duro em molares pulpotomizados de ratos. Hidróxido de cálcio e formocresol, materiais comumente utilizados em pulpotomias, também foram utilizados para comparação. Para o experimento, vinte e quatro ratos machos foram utilizados, divididos aleatoriamente em 3 grupos de 8 animais cada. Cavidades classe I foram

realizadas nos primeiros e segundos molares superiores e primeiros molares inferiores, e a pulpotomia realizada com os medicamentos citados acima. Após 7, 15, 30 e 60 dias, os animais foram sacrificados, os dentes removidos e os tecidos pulpares avaliados por microscopia ótica convencional. Em todos os períodos de estudo, nos grupos tratados com hidróxido de cálcio e alendronato de cálcio, a deposição de tecido duro foi evidente ao longo da dentina radicular. Após 30 e 60 dias, esses dois grupos não mostraram diferenças significativas quanto a intensidade da reação inflamatória e a formação de tecido duro. No grupo formocresol, após 30 dias foi observado um tecido pulpar desorganizado, sem a formação de dentina; após 60 dias, tecido duro irregular foi observado apenas na porção apical do tecido pulpar. Segundo os autores, o alendronato de cálcio parece ser capaz de manter a vitalidade pulpar, promovendo a formação de um tecido duro, semelhante ao que ocorreu no grupo tratado por hidróxido de cálcio.

FARHAD; MOHAMMADI (2005) realizaram uma revisão da literatura com relação ao uso do hidróxido de cálcio na Odontologia, relatando que o material é utilizado em múltiplos procedimentos e que suas indicações têm aumentado muito, e incluem capeamento pulpar direto e indireto, apicigênese, apicificação, tratamentos de reabsorções, perfurações radiculares iatrogênicas, reimplante dental e curativo de demora entre sessões.

HUTH et al. (2005) compararam a efetividade de Er:YAG laser, hidróxido de cálcio e sulfato férrico em pulpotomias com a efetividade do formocresol. Para o

estudo, 200 molares decíduos em 107 crianças saudáveis foram incluídos no estudo e aleatoriamente separados para a realização de uma das técnicas utilizadas no experimento. Após 6, 12, 18 e 24 meses os dentes foram reavaliados. Após 24 meses, as taxas de sucesso clínico foram de 96% para o formocresol, 93% para Er:YAG laser, 87% para o hidróxido de cálcio e 100% para o sulfato férrico. Apenas o hidróxido de cálcio apresentou um desempenho clínico significativamente pior que o formocresol. Os autores sugeriram que o hidróxido de cálcio é menos apropriado para pulpotomias que o formocresol.

MARKOVIC et al. (2005) avaliaram o sucesso de uma técnica de pulpotomia em 104 primeiros molares decíduos com indicação para o procedimento, em 104 crianças, com formocresol (n=34), hidróxido de cálcio (n=33) ou sulfato férrico (n=37). Os dentes foram clínica e radiograficamente avaliados durante 18 meses. A taxa de sucesso clínico aos 18 meses foi maior no grupo tratado com formocresol (90,9%), seguido por aquele tratado com sulfato férrico (89,2%) e hidróxido de cálcio (82,3%). Entretanto, essas diferenças não foram estatisticamente significantes. Radiograficamente, foi observada a presença de uma ponte de dentina em 47% dos dentes tratados com hidróxido de cálcio e em 40,5% daqueles tratados com sulfato férrico. O exame radiográfico não revelou a presença de ponte dentinária em nenhum dos dentes tratados com formocresol. Assim, os autores concluíram que devido às taxas de sucesso clínico e radiográfico

observadas nas pulpotomias realizadas com sulfato férrico, este pode ser recomendado como medicamento para uso em pulpotomias.

ALBUQUERQUE et al. (2006) investigaram os aspectos histológicos do tecido pulpar de cães submetidos a pulpotomias e capeados com etil-cianoacrilato e hidróxido de cálcio. Trinta dentes foram divididos em 2 grupos iguais: grupo 1 – etil-cianoacrilato e grupo 2 – hidróxido de cálcio. Após 30 dias os espécimes foram submetidos a processamento histológico e posteriormente avaliados microscopicamente, onde foi observada a presença de uma barreira de tecido duro em 83,3% dos dentes no grupo 1 e em 100% no grupo 2. Uma barreira contínua de tecido duro foi observada em 50% dos dentes do grupo 1 e 75% no grupo 2. Entretanto, essas diferenças não foram estatisticamente significantes. Necrose não foi observada em nenhum dos grupos estudados. Com esses resultados, os autores concluíram que ambos os materiais são capazes de induzir a formação de uma barreira de tecido duro.

BRISO et al. (2006) avaliaram a resposta do tecido pulpar de dentes de cães submetidos a capeamento com hidróxido de cálcio e agregado de trióxido mineral. Para o estudo, trinta e sete dentes de dois cães foram distribuídos em 2 grupos, de acordo com o material empregado no capeamento. Após 60 dias, os animais foram sacrificados e os espécimes foram processados para serem analisados microscopicamente. Foi observado que o agregado de trióxido mineral

apresentou maior taxa de sucesso, apresentando menor ocorrência de infecção e necrose pulpar, quando comparado ao hidróxido de cálcio.

GRAHAM et al. (2006) relataram que o hidróxido de cálcio tem sido muito utilizado, para induzir a regeneração dentinária pela formação de pontes nos sítios com polpa exposta, após injúrias no tecido dental. Entretanto os processos biológicos envolvidos nestes eventos ainda não estão claros. Desta forma os autores sugerem a hipótese de que os fatores de crescimento e outras moléculas bio-ativas seqüestradas na matriz dentinária podem ter sido liberadas pela ação do hidróxido de cálcio e que sinais de expressão gênica dessas moléculas são observados nas células pulpares durante a regeneração.

NAKAMURA et al. (2006) investigaram se a aplicação local de uma fusão recombinante de ameloblastina poderia influenciar a formação de dentina reparadora em dentes pulpotomizados. Nesse estudo, pulpotomias foram realizadas em 28 incisivos centrais inferiores, em 17 porcos miniatura adultos. Seguindo o procedimento cirúrgico, o tecido pulpar exposto foi recoberto com ameloblastina recombinante ou hidróxido de cálcio. Após 2, 4 e 8 semanas, os dentes foram extraídos e examinados por histomorfometria e imunoistoquímica utilizando anticorpos contra ameloblastina suína, colágeno tipo I e sialoproteína dentinária. Em dentes tratados com ameloblastina recombinante, uma quantidade substancial de dentina reparadora foi observada no local de aplicação, recobrindo completamente o tecido pulpar que foi exposto durante o procedimento. Formação

de dentina também foi observada nos dentes tratados com hidróxido de cálcio. Entretanto, a quantidade de dentina reparadora nesse grupo foi significativamente menor que aquele tratado com ameloblastina. Imunoistoquimicamente, os achados confirmaram que o tecido duro formado era similar à dentina. Os resultados sugerem potencial para a ameloblastina recombinante como um agente biologicamente ativo no reparo do tecido pulpar e na formação de dentina reparadora após pulpotomia.

OLSSON et al. (2006) realizaram uma revisão nas principais bases de dados da literatura especializada na área da saúde, PubMed e CENTRAL, utilizando termos indexados específicos com o intuito de avaliar a evidência de formação de uma barreira de tecido duro após capeamento pulpar em humanos. Eles avaliaram o nível de evidência de cada artigo publicado como alto, moderado ou baixo. O processo de investigação inicial resultou num total de 171 artigos. Após lerem os resumos e realizar uma pesquisa manual dos artigos citados nas listas de referências desses 171 artigos, 107 estudos foram selecionados, sendo estes completamente lidos e interpretados. Após a interpretação desses artigos, apenas 21 estudos foram incluídos na revisão sistemática e dados os níveis de evidência. Nenhum estudo apresentava um alto nível de evidência, um estudo tinha moderado e 20 estudos apresentavam baixo nível de evidência. Como havia heterogeneidade entre os trabalhos, meta-análise não foi realizada. A maioria dos estudos sobre capeamento pulpar utilizando o hidróxido de cálcio ou materiais à

base de hidróxido de cálcio relatava a formação de uma barreira de tecido duro. Estudos sobre outros materiais capeadores apresentavam resultados inferiores. Assim, os autores concluíram que o insuficiente grau de evidência não necessariamente implica que não há efeitos do capeamento pulpar ou que ele não deveria ser utilizado, mas que sejam realizados estudos com alta qualidade.

TUNÇ et al. (2006) avaliaram os efeitos do hipoclorito de sódio a 3% utilizado como um agente hemostático sobre o resultado de pulpotomias realizadas com hidróxido de cálcio em dentes decíduos. Um total de 18 molares decíduos com cáries avançadas e apresentando reabsorção de metade das suas raízes foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos de estudo. Pulpotomias convencionais com hidróxido de cálcio foram realizadas nos dentes dos dois grupos. Entretanto, nos dentes dos grupos de estudo, um algodão embebido em hipoclorito de sódio a 3% foi aplicado como hemostático por 30 segundos antes da pulpotomia. Após as exodontias, os dentes foram histologicamente avaliados e os resultados comparados. Foi observado que no grupo tratado com hipoclorito de sódio a 3%, apenas um espécime apresentou necrose parcial do tecido pulpar. No outro grupo, não foi notada necrose em nenhum dos dentes avaliados. Conclui-se que o uso de hipoclorito de sódio a 3% como hemostático não interfere nos resultados obtidos em pulpotomias realizadas com hidróxido de cálcio.

AEINEHCHI et al. (2007) compararam os resultados da aplicação de formocreol ou MTA durante pulpotomia em molares decíduos. Cento e vinte e seis

crianças com idade entre 5 e 9 anos, que apresentavam dentes decíduos cariados e necessitavam de pulpotomia, foram selecionados para o estudo. Os dentes foram avaliados e comparados clínica e radiograficamente após 3 e 6 meses. Nos dois grupos, não foi observado insucesso clínico após os períodos avaliados. Após 3 meses, não havia diferenças significativas nos achados radiográficos dos dentes e tecidos vizinhos. Entretanto, após 6 meses de seguimento, havia significativamente mais casos com reabsorção radicular no grupo tratado com formocresol ($p = 0,036$); nenhum caso de reabsorção radicular foi observado entre aqueles tratados com MTA. Em quatro casos tratados com formocresol, os tecidos circundantes apresentavam sinais radiográficos de doença pós-tratamento; nenhuma alteração foi vista nos casos tratados com MTA. Conclui-se que após 6 meses, pulpotomia com MTA estava associada com menos casos de reabsorção radicular e doença pós-tratamento. MTA parece ser uma alternativa viável para pulpotomia em molares decíduos.

2. Própolis

Historicamente, o primeiro trabalho sobre a própolis foi publicado há cerca de 90 anos por HELFENBERG; CHEM, em 1908, porém este composto já vinha sendo utilizado como medicamento em diversas áreas, desde a época de Hipócrates, que o adotaram como cicatrizante interno e externo.

KHAYYAL et al. (1993) avaliaram o efeito de extrato aquoso de própolis a 13%, em dose de 1,5% e 10 m/kg (via oral), sobre o edema induzido por carragenina e sobre artrite induzida em ratos. Em ambos os modelos, o extrato mostrou um potente efeito antiinflamatório dose dependente, comparado àquele apresentado pelo diclofenaco, droga utilizada como referência padrão.

BRETZ et al. (1998) estudaram a atividade antimicrobiana e o potencial de cicatrização da própolis e do hidróxido de cálcio Ca(OH)_2 após a exposição pulpar direta provocada em dentes de 25 ratos machos adultos. Após o experimento, não foram encontradas diferenças significantes na cicatrização da polpa dental entre os dois grupos estudados, com ambas as substâncias promovendo uma reorganização normal da polpa, sendo igualmente eficazes em manter uma reação inflamatória de baixa intensidade, além de ter estimulado a formação de dentina reparadora.

BRETZ et al. (1999) investigaram as propriedades da própolis em exposições pulpares em dentes de ratos, comparando com hidróxido de cálcio. Os autores verificaram que após 7 dias de capeamento pulpar com ambos os materiais, a própolis demonstrou melhor resposta quanto a reorganização e vascularização normal da polpa. Entretanto, em relação a deposição de dentina reparadora, o hidróxido de cálcio foi mais eficiente. Após 14 dias, o hidróxido de cálcio apresentou-se discretamente superior à própolis em manter uma baixa resposta inflamatória e estabilizar a infecção bacteriana. Porém, as polpas

dentárias capeadas com própolis mostraram maior formação de pontes de dentina e reorganização do tecido pulpar.

MANARA et al. (1999) revisaram a literatura a respeito do uso da própolis na Odontologia. Após os dados coletados concluíram que a própolis tem atividades antibacteriana, antiviral, anestésica, antiinflamatória, sendo essas propriedades úteis na Odontologia. Além disso, existe a necessidade de se realizar mais investigações quanto à sua composição química, sua atividade terapêutica e a inter-relação composição química-atividade terapêutica.

KOO et al. (2000) avaliaram o efeito de uma nova variedade de própolis da Bahia no crescimento de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Streptococcus cricetus* comparados à própolis de Minas Gerais e Rio Grande do Sul. Concluíram que a nova variedade foi excepcionalmente efetiva quando comparada aos demais e os efeitos biológicos da própolis não são dependentes somente dos flavonóides e derivados de ácido cinami.

MARCUCCI et al. (2001) isolaram quatro componentes da própolis brasileira, e identificaram-nos como: ácido 3-prenil-4-hidroxicinâmico, benzopirane 2,2-dimetil-6-carboxietileno-2H-1-, ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico e benzopiran 2,2-dimetil-6-carboxietenil-8-prenil-2H-1. Todos os compostos foram testados microbiologicamente contra *Trypanosoma cruzi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphilococcus aureus* e *Streptococcus faecalis*. Todos os compostos

foram eficientes contra o *Trypanosoma cruzi*, porém o ácido 3-prenil-4-hidroxicinâmico não foi eficiente contra as bactérias testadas.

SANTOS-PEREIRA et al. (2002) realizaram um levantamento bibliográfico sobre o uso da própolis nos últimos 100 anos e fizeram perspectivas futuras sobre a utilização desta nas diversas áreas da saúde pelos países desenvolvidos, devido às suas propriedades químicas e farmacológicas que têm sido relatadas há séculos. Neste estudo, eles demonstram também a importância das propriedades antibacterianas e atividades citotóxicas da própolis como um novo conceito interdisciplinar nas áreas de pesquisa.

DUARTE et al. (2003) verificaram o efeito do extrato etanólico cru de um própolis livre de flavonóides classificado quimicamente como tipo 6, sobre a atividade de glucosiltransferases (GTF) purificadas e sobre o crescimento e aderência de *Streptococcus mutans*. Testes de susceptibilidade ao extrato foram analisados, usando o método de difusão do agar e por determinação da concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima. O efeito da aderência bacteriana sobre uma placa de vidro também foi avaliado. A atividade de GTF em solução foi efetivamente inibida pelo extracto etanólico de própolis tipo 6, apresentando também significativa atividade antibacteriana. Os dados mostraram que a própolis tipo 6 reduziu de forma significativa a atividade de GTF e inibiu o crescimento e a aderência de *S. mutans*.

MIORIN et al. (2003) avaliaram a atividade antibacteriana da própolis e do mel produzido pela *Apis mellifera* e *Tetragonisca angustula* sobre *Staphylococcus aureus*. O mel e a própolis foram analisados por cromatografia líquida, demonstrando serem distintos, devido à localização geográfica e espécies de abelhas distintas envolvidas na produção das amostras de mel e própolis avaliadas. As amostras de própolis apresentaram maior atividade antimicrobiana que o mel.

AL-SHAHER et al. (2004) compararam os efeitos citotóxicos da própolis em diferentes concentrações e hidróxido de cálcio sobre fibroblastos de polpa dental e ligamento periodontal, verificando o possível uso da própolis como alternativa na medicação intra-canal. Os fibroblastos pulpare e aqueles oriundos do ligamento periodontal foram obtidos de terceiros molares humanos erupcionados e extraídos de indivíduos saudáveis, estabelecendo culturas de células. Os dados evidenciaram que o tratamento dos fibroblastos do ligamento periodontal com 1, 2 ou 4 mg/ml de própolis resultou em 75% de viabilidade celular após 20 horas. O tratamento dos fibroblastos pulpare com 1 mg/ml de própolis não foi citotóxico. Entretanto, o tratamento desses mesmos fibroblastos pulpare com 2 ou 4 mg/ml de própolis causou 50% de viabilidade celular. Por outro lado, o hidróxido de cálcio foi aproximadamente 10 vezes mais citotóxico quando comparado à própolis. Assim, os autores concluíram que a própolis pode ser uma alternativa viável como medicação intra-canal, visto que apresenta uma menor citotoxicidade.

OLIVEIRA (2004) pesquisou o potencial de irritabilidade de pastas de hidróxido de cálcio, própolis e associação hidróxido de cálcio/própolis no tecido subcutâneo de ratos, nos períodos de 7, 21 e 42 dias. As pastas foram acondicionadas em túbulos de dentina e implantadas no tecido subcutâneo de ratos. O autor avaliou a intensidade do infiltrado inflamatório mononuclear (crônico) e polimorfonuclear (agudo), celularidade (fibroblastos), vascularização e atividade macrofágica (fagócitos mononucleares e células gigantes inflamatórias). Após análise quali-quantitativa, o autor concluiu que as pastas medicamentosas avaliadas apresentaram-se como irritantes ao tecido conjuntivo do rato. Entretanto, considerando-se o somatório de eventos histopatológicos, mediante análise comparativa tanto qualitativa como quantitativa, a pasta com a associação das pastas de hidróxido de cálcio/própolis foi a menos irritante ao tecido conjuntivo do subcutâneo de ratos.

SILVA et al. (2004) avaliaram o potencial irritativo da própolis *Casearia sylvestris*, Otosporin e soro fisiológico (controle). Para este estudo, foram utilizados 28 ratos machos da linhagem Wistar. Os animais foram anestesiados e posteriormente receberam uma injeção do corante azul de Evans (2%) por via intravenosa na veia caudal. Em quatro regiões do dorso tricotomizado de cada animal, foram injetados 0,1 ml de cada substância estudada. Os animais foram sacrificados meia hora, uma, três e seis horas após a injeção das substâncias, e cada pedaço de pele contendo a lesão foi colocado em frascos contendo

formamida, que foram incubados a 45 graus Celsius por 72 horas. Após esse período, as amostras foram analisadas por meio de um espectrofotômetro. No período de 3 horas foram observados os maiores valores de corante extraído, ou seja, determinando o pico da reação inflamatória gerada. A própolis foi a substância que apresentou o menor potencial irritativo.

BANKOVA (2005) discutiu a variabilidade química da própolis, a dificuldade de padronização e relata que sua atividade antimicrobiana é conferida pela presença de flavonóides, ácidos aromáticos e ésteres; a ação antimicrobiana de amplo espectro decorre da presença dos ácidos ferúlico e cafeico; a atividade antiviral e ação anti-ulcerativa (que auxilia no processo de cicatrização) está em função de flavonóides e ácidos aromáticos. Porém, demonstram que ainda há muito a ser pesquisado e trabalhado para a standardização de todos os tipos de própolis.

FERNANDES JUNIOR et al. (2005) estudaram a ação sinérgica *in vitro* entre o extrato etanólico de própolis e drogas antimicrobianas contra *Staphylococcus aureus*. Placas de petri com concentrações sub-inibitórias de extrato etanólico de própolis foram incubadas com 13 drogas usando os métodos de Kirby e Bauer. Sinergismo anti-*S. aureus* foi observado entre extrato etanólico de própolis e cinco drogas antimicrobianas testadas – cloranfenicol, gentamicina, netilmicina, tetraciclina e vancomicina. Os resultados demonstraram que há sinergismo entre

extrato etanólico de própolis e algumas drogas antimicrobianas, especialmente aquelas que interferem diretamente na síntese de proteínas bacterianas.

SABIR et al. (2005) avaliaram a resposta da polpa dental de ratos submetidas a capeamento pulpar direto com própolis. Os autores utilizaram materiais flavonóides e não-flanonóides purificados de um extrato alcoólico da própolis do sul de Sulawesi, na Indonésia. Uma cavidade classe I foi realizada sobre a superfície oclusal do primeiro molar superior direito de ratos Sprague Dawley. As polpas dentárias foram expostas e capeadas com cimento a base de óxido de zinco e eugenol (grupo I – controle) ou com própolis flavonóides (grupo II) e própolis não-flavonóides (grupo III). Os animais foram sacrificados após 1, 2 ou 4 semanas e as amostras foram obtidas, processadas e microscopicamente avaliadas. Os resultados mostraram que ocorreu inflamação pulpar leve no grupo I; entretanto os níveis da reação inflamatória aumentaram após 2 e 4 semanas, sem formação de ponte de dentina após 4 semanas. No grupo II, reação inflamatória não era evidente após 1 semana, porém reação inflamatória leve e moderada eram observadas após 2 e 4 semanas, respectivamente. Ponte de dentina parcial era notada após 4 semanas nas polpas tratadas com própolis flavonóides (grupo II). No grupo tratado com própolis não-flavonóides (grupo III), observou-se uma reação inflamatória após 1 semana e inflamação moderada após 2 e 4 semanas. Necrose pulpar não foi observada em nenhum dos grupos estudados. Os autores sugeriram que o capeamento pulpar direto com própolis

flavonóides em ratos pode atrasar a inflamação pulpar e estimular a dentina reparadora.

SALATINO et al. (2005) discutiram a variação química e a origem da própolis brasileira. Eles observaram que há grande variação na composição química da própolis brasileira de acordo com a região onde ela é produzida, sendo denominada de própolis verde aquela produzida na região sudeste do país. Esta própolis verde apresenta consistência dura e friável, de onde é facilmente obtido um pó. Devido à grande variabilidade química, não é possível determinar um tipo característico de própolis brasileira, visto que, como mencionado acima, há diferentes tipos dessa substância de acordo com a região onde ela é produzida.

SILICI et al. (2005) avaliaram a atividade anti-fúngica da própolis coletada de diferentes regiões e espécies de abelhas, sobre infecções isoladas de pacientes com micoses superficiais. Os valores de concentração inibitória mínima obtidos usando os métodos de diluição em agar foram comparados aos diâmetros de zonas de inibição de crescimento, usando o método de difusão em disco. Os resultados mostraram que *Candida albicans*, *C. glabrata*, *Trichosporon spp.* e *Rhodotorula sp.* foram susceptíveis a baixas concentrações de própolis, onde a última mostrou a maior susceptibilidade. Em relação a outras amostras de própolis testadas, a amostra de própolis coletada por *Apis mellifera caucasica* apresentou a maior atividade anti-fúngica contra todas as micoses superficiais. Entretanto, as

amostras de própolis coletadas por *A. m. carnica* e *A. m. anatolica* foram as menos ativas.

BRAILO et al. (2006) relataram um caso de hipersensibilidade de contato tardia a própolis na mucosa bucal. A paciente era do gênero feminino e apresentava lesões erosivo-ulceradas irregulares, recobertas parcialmente por uma membrana fibrino-purulenta, que envolviam as mucosas de retrocomissura, lábios superior e inferior e gengiva na região dos incisivos centrais inferiores. Ela relatou que se automedicou com uma solução tópica de própolis para tratamento de úlceras aftosas recorrentes. Após 10 dias da aplicação da solução de própolis, as lesões bucais desenvolveram. Testes alérgicos à própolis foram realizados e confirmaram a alergia da paciente a esta substância. Com este caso, os autores mostraram que várias medicações de origem natural, como a própolis, embora tenham sido utilizadas por várias décadas por serem úteis em diversas situações, em alguns indivíduos podem causar efeitos colaterais devido ao seu potencial antigênico.

ONCAG et al. (2006) avaliaram a eficácia da própolis como medicação intracanal contra *Enterococcus faecalis*. Para o estudo, os autores utilizaram dentes uni-radulares permanentes humanos recentemente extraídos. Após a preparação e esterilização dos canais radiculares, estes foram contaminados com *Enterococcus faecalis* e incubados em estufa a 37 graus Celsius. Para determinar o crescimento bacteriano sobre agar sangue, amostras microbiológicas foram realizadas com

pontas de papel estéreis para avaliar os resultados em 48 horas e 10 dias. Todos os dados foram analisados estatisticamente com Test t, Mann Witney, Kruskal Wallis e ANOVA. Este revelou que própolis apresentou boa atividade antibacteriana *in vitro* contra *Enterococcus faecalis* em canais radiculares, sugerindo que própolis poderia ser utilizada como uma alternativa para a medicação intracanal.

OZKUL et al. (2006) investigaram o potencial genotóxico *in vitro* de própolis em linfócitos humanos. Amostras de sangue periférico foram obtidas de 10 indivíduos saudáveis (5 homens e 5 mulheres), não-fumantes e não-alcoólatras. O material foi incubado e exposto a concentrações crescentes de própolis (5, 25, 50 e 250 mg/ml). As taxas de troca de cromátides-irmãs se mostraram aumentadas nas células expostas a altas concentrações de própolis, com diferenças estatisticamente significantes entre essas células e o grupo controle ($p < 0,05$). As taxas aumentadas de troca de cromátides-irmãs mostraram que a própolis poderia causar efeitos genotóxicos em altas concentrações.

TAN-NO et al. (2006) verificaram os efeitos antiinflamatórios de própolis, comparando-o com os efeitos do diclofenaco e L-NAME, um inibidor da enzima óxido nítrico sintase. O método utilizado foi o do edema da pata de ratos induzido por carragenina. Quando administrados 10 minutos antes da injeção de carragenina, própolis (1:1000, 1:100), diclofenaco (50 mg/Kg) e L-NAME (100mg/Kg) mostraram um efeito antiinflamatório significativo. Os efeitos anti-

inflamatórios de própolis e L-NAME foram significativamente inibidos por L-arginina, um precursor de óxido nítrico, mas não por D-arginina. Por outro lado, o efeito antiinflamatório causado pelo diclofenaco não foi inibido nem por D-arginina, nem por L-arginina. Desta forma, estes resultados revelaram que o efeito antiinflamatório de própolis sobre o edema da pata de ratos age via inibição da produção de óxido nítrico, similar à via de L-NAME, mas diferente daquela apresentada pelo diclofenaco.

MACHADO et al. (2007) avaliaram a ação de amostras de extratos etanólicos de própolis coletadas no Brasil e na Bulgária contra quatro espécies de Leishmania – *Leishmania amazonensis*, *L. braziliensis*, *L. chagasi*, do Novo Mundo e *L. Major* do Velho Mundo – associadas a diferentes formas clínicas de leishmaniose. A composição dos extratos foi previamente caracterizada por cromatografia de gás de alta resolução a alta temperatura associada a espectrometria de massa. Considerando as diferenças químicas entre os extratos e o comportamento dos parasitas, foram observadas diferenças significativas na atividade leishmanicida de acordo com a concentração dos extratos, que variaram de 2,8 a 229,3 µg/ml. Uma análise geral mostrou que para todas as espécies avaliadas, extratos búlgaros foram mais ativos que o extrato etanólico brasileiro.

NAITO et al. (in press) avaliaram o efeito antiinflamatório de um creme contendo extrato da própolis (variando de 3% a 7%) em edema induzido por carragenina em patas de ratos. O tratamento com o creme inibiu o edema

moderadamente, sendo a inibição significativa nas concentrações de 5% e 7%. Adicionalmente, os efeitos do creme sobre a quimiotaxia de neutrófilos humanos foram investigados usando o método de placa de agarose. A migração de neutrófilos através do soro tratado com zimosan foi inibida na presença do creme da própolis a 5%. Estes resultados demonstraram que aplicação tópica do extrato da própolis é eficiente na inibição do edema induzido por carragenina em patas de ratos. O efeito inibitório do extrato da própolis na quimiotaxia de neutrófilos também pode contribuir para o efeito antiinflamatório.

SAMET et al. (in press) avaliaram o potencial da própolis em reduzir os episódios de estomatite aftosa recorrente. Foi realizado um estudo randomizado, duplo-cego, placebo-controle, onde foram administrados diariamente 500 mg de própolis via oral (grupo experimental) ou uma cápsula placebo via oral (grupo controle). Os pacientes relataram vários episódios de úlceras aftosas recorrentes, sendo contatados a cada 2 semanas para relatar as recorrências. Os dados foram analisados para determinar se os pacientes apresentavam diminuição de 50% na frequência das recorrências. Os dados indicaram redução estatisticamente significativa das recorrências no grupo própolis ($p = 0.04$). Pacientes do grupo própolis também relatavam melhora significativa e sua qualidade de vida ($p = 0.03$). Os autores concluíram que própolis mostrou ser efetiva na diminuição do número de recorrências e na melhora da qualidade de vida de pacientes que

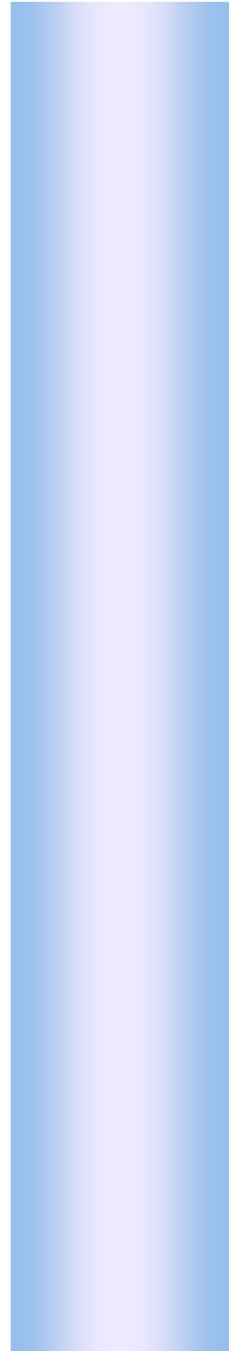
sofrem de úlceras aftosas recorrentes. Assim, própolis deveria ser mais bem avaliada em estudos futuros, utilizando amostra com maior número de pacientes.



Proposição

O objetivo deste estudo foi avaliar a evolução reacional do tecido pulpar, em dentes submetidos à pulpotomia com pastas medicamentosas à base de hidróxido de cálcio, de extrato padronizado de própolis a 80% e da associação delas na proporção de (1:1), por meio de análise histológica do tipo e intensidade da reação inflamatória, vascularização, presença de macrófagos e células gigantes multinucleadas, presença de necrose, formação de barreira de tecido mineralizado e calcificação distrófica, utilizando suínos como modelo experimental.

O Extrato padronizado de própolis – EPP – AF utilizado encontra-se em processo de patente, no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), sob o número PI 0405483.



Material e Métodos

O projeto de pesquisa do presente estudo foi submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Ribeirão Preto, que o aprovou sem restrições (Anexo).

Seleção dos animais

Nove suínos (Duroc, Large White, Landrace) machos, com peso entre 75 e 100 Kg e idade média de 140 dias foram selecionados, considerando-se que, aos três meses de vida os animais já apresentam todos os dentes incisivos inferiores decíduos irrompidos (SISSON ; GROSSMAN, 1986). Estes animais eram provenientes do Setor de Suinocultura do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária de Jaboticabal – Universidade Estadual Paulista (UNESP) e ali mantidos nas instalações do Laboratório de Sanidade Suína do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, individualizados pelo Sistema de Marcação Australiano, que permite identificar o animal por meio de um número. Os suínos foram acompanhados e constantemente avaliados por médicos veterinários e técnicos da instituição durante todo o período do experimento e tratados com ração balanceada e água *ad libitum*.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos experimentais com três animais cada, de acordo com os períodos de estudo de 7, 21 e 42 dias.

Pastas medicamentosas utilizadas

Para o preparo das pastas medicamentosas, foram utilizados os seguintes materiais: hidróxido de cálcio p.a. (Merck, Darmstadt, Alemanha), extrato natural padronizado de própolis em pó a 80% (Apis Flora – Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) e Polietilenoglicol 400 (Merck, Darmstadt, Alemanha), com as seguintes composições:

Pasta A – à base de hidróxido de cálcio:

Hidróxido de cálcio _____ 3,0 g

Polietilenoglicol 400 _____ 1,75 ml

Pasta B – à base de própolis:

Extrato padronizado de própolis 80% _____ 1,5 g

Polietilenoglicol 400 _____ 1,75 ml

Pasta C – Associação da pasta à base de hidróxido de cálcio (Pasta A) e pasta à base de própolis (Pasta B) (1:1):

Pasta A + Pasta B _____ 1:1

Polietilenoglicol 400 _____ 1,75 ml

As pastas A e B foram aviadas por Apis Flora – Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil, enquanto a pasta C foi obtida pela associação pastas A e B, estas em iguais volumes obtidos por meio de uma colher dosadora, dispensadas em uma placa de

vidro e manipuladas com o auxílio de espátula metálica 24 F (Golgran, São Paulo, SP, Brasil) estéril (Figura 1).

O Extrato padronizado de própolis – EPP – AF é uma fórmula desenvolvida que contempla quantidades definidas de própolis de várias regiões do Brasil com princípios ativos ou marcadores como a *Artepelin-c*, *Bacharina*, *Ácido p-cumárico* e *Drupanin*, sendo essas substâncias avaliadas e monitoradas qualitativa e quantitativamente, mantendo a estabilidade química e permitindo a obtenção de sua reprodutibilidade lote a lote. Esse produto encontra-se em processo de patente, no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), sob o número PI 0405483.

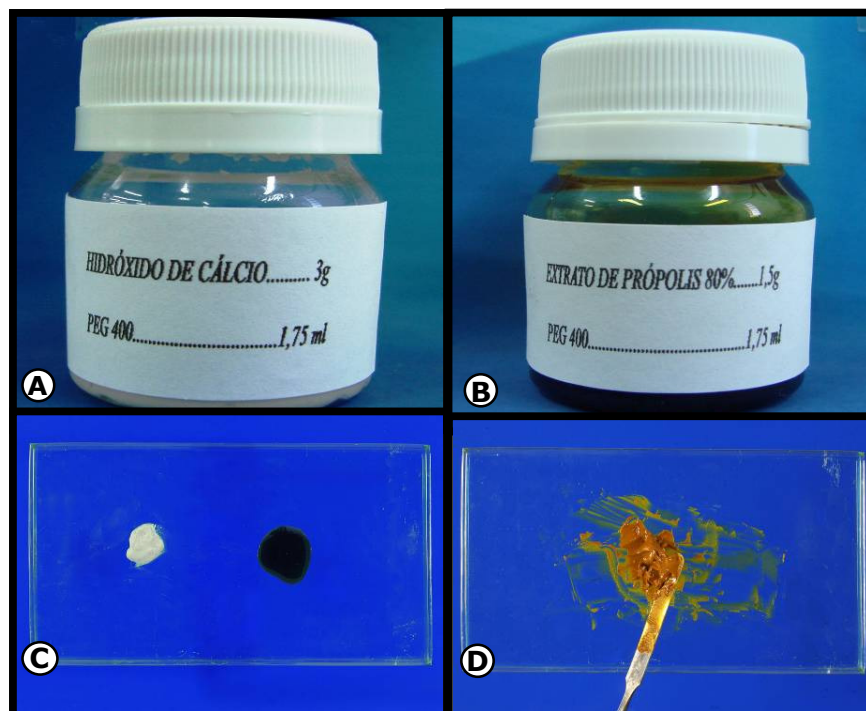


Figura 1. Pastas utilizadas. A) À base de hidróxido de cálcio; B) À base de extrato padronizado de própolis 80%; C) Pastas de hidróxido de cálcio e extrato padronizado de própolis 80%; D) Obtenção da pasta de hidróxido de cálcio associada ao extrato padronizado de própolis a 80% na proporção volumétrica de (3,0g/1,5g).

Procedimentos operatórios

Os animais selecionados foram anestesiados por médicos veterinários do Laboratório da Área de Anestesiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista (UNESP), de acordo com protocolo utilizado na instituição: medicação pré-anestésica intramuscular de Azaperona 7,8 ml (Suicalm, Merian, Campinas, SP, Brasil), e, após 30 minutos, administrou-se associação de Midazolam 4,7 ml (Dormonid, Roche, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) intramuscular e 7,5 ml de Cloridrato de Cetamina (Cetamin, Produtos Veterinários J.A., Patrocínio Paulista, SP, Brasil), sendo 2,0 ml via endovenosa e 5,5 ml intramuscular. O efeito anestésico permaneceu por 45 minutos, tempo suficiente para a realização do procedimento proposto.

Em cada animal, quatro incisivos inferiores decíduos foram submetidos ao procedimento de pulpotomia, sendo que cada grupo de dentes recebeu uma das pastas testadas. Desta forma, o incisivo lateral esquerdo correspondeu ao controle e não recebeu nenhuma pasta; o incisivo central esquerdo recebeu a pasta à base de extrato padronizado de própolis verde 80% (Pasta B), o incisivo central direito a associação dos dois medicamentos (Pasta C) e o incisivo lateral direito a à base de hidróxido de cálcio (Pasta A).

Para tanto, foi realizado isolamento absoluto do campo operatório com dique de borracha (Damtex, DFL, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) adaptado ao arco de Ostby (Jon, São Paulo, SP, Brasil) e grampo nº 212 (SSWHITE, Rio de Janeiro, RJ,

Brasil) e assepsia com digluconato de clorexidina a 2% (FMG, Joinville, SC, Brasil) (Figura 2). A cirurgia de acesso à câmara pulpar foi realizada na face vestibular dos dentes com brocas PM nº 2 (JET Carbide Burns, Ontário, Canadá) acionadas por motor elétrico de baixa rotação (ROTEX™ 780, Dentamerica, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e irrigação constante com soro fisiológico (Laboratório JP Indústria Farmacêutica, Ribeirão Preto, SP, Brasil) (Figura 2), tomando-se o cuidado de remover todo o teto da câmara pulpar.

A polpa coronária foi cuidadosamente removida com curetas número 2 (HUFRIEDY, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) (Figura 2), a câmara pulpar foi irrigada abundantemente com soro fisiológico e leve pressão com penso de algodão estéril sobre o tecido pulpar remanescente foi realizada para a hemostasia (Figura 2).

As pastas medicamentosas foram levadas à câmara pulpar com auxílio de aplicador de hidróxido de cálcio (Golgran, São Paulo, SP, Brasil) (Figura 2) e após a remoção dos excessos, a cavidade foi retaurada com cimento ionômero de vidro modificado por resina (Vitremer, 3M, EUA) (Figura 2). No incisivo lateral inferior esquerdo, utilizado como controle, foi colocado apenas um penso de algodão sobre o tecido pulpar exposto e a cavidade restaurada como foi descrito acima. Ao término do efeito anestésico, o animal submetido ao procedimento teve comportamento semelhante àqueles que não receberam anestesia geral.

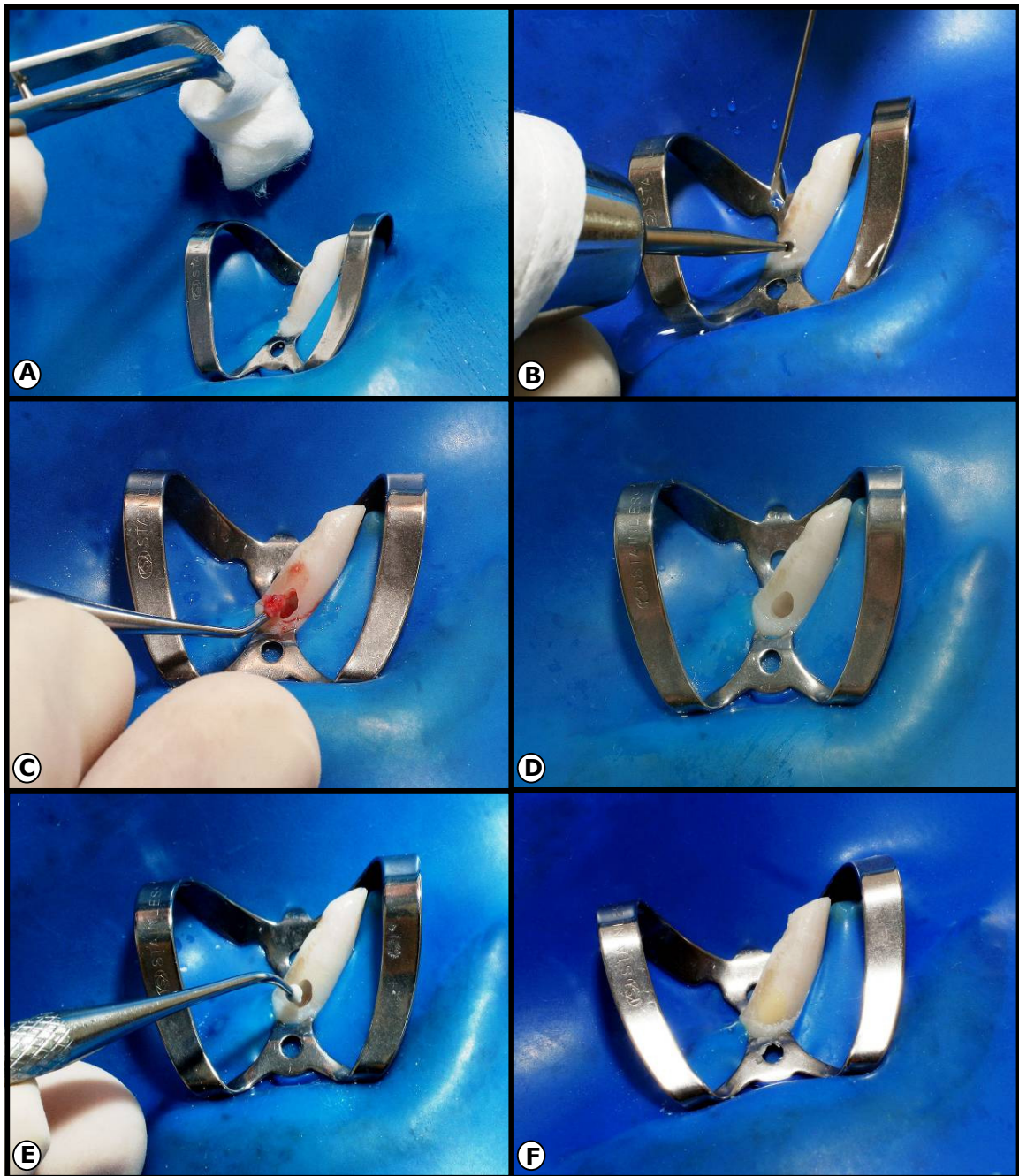


Figura 2. Seqüência operatória. A) Isolamento do campo operatório e assepsia. B) Cirurgia de acesso à câmara pulpar e irrigação com soro fisiológico. C) Remoção da polpa coronária. D) Câmara pulpar após remoção da polpa coronária e hemostasia. E) Aplicação da pasta medicamentosa. F) Restauração da cavidade com cimento ionômero de vidro modificado por resina Vitremer.

Análise anátomo-histopatológica

Decorridos os períodos de estudo, 7, 21 e 42 dias, os animais foram sacrificados por insensibilização elétrica, a qual consiste na passagem pelo cérebro (Tálamo e Córtex) de uma corrente elétrica alternada de baixa voltagem, que ao atravessar os principais centros sensoriais do cérebro, determina a falta de coordenação das células nervosas cerebrais produzindo inconsciência temporária, onde neste momento se realiza o abate do animal. Desta feita, os dentes foram removidos em único bloco juntamente com o processo alveolar. Os blocos, após dissecação, foram fixados em formol tamponado a 10% (Merck, Darmstadt, Alemanha) durante 72 horas, mantidos em frascos unitários opacos, ao abrigo da luz e devidamente identificados (Figura 3).

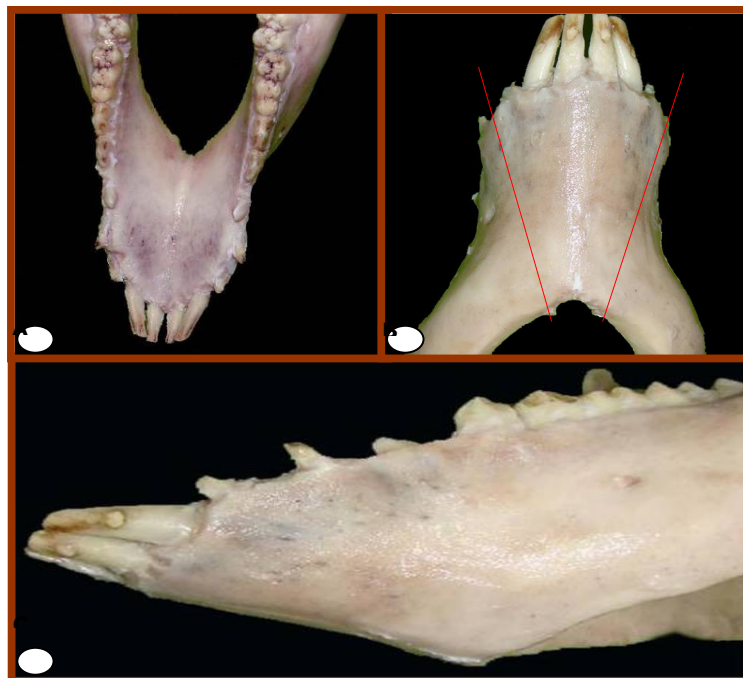


Figura 3. Mandíbula dissecada. A) Vista oclusal. B) Vista vestibular da região anterior onde os dentes incisivos inferiores foram removidos em bloco. C) Vista lateral.

Depois da fixação, os blocos foram descalcificados com solução aquosa de ácido tricloroacético a 10% (Merck, Darmstadt, Alemanha), por 21 dias. Após a descalcificação, os dentes foram individualizados e seccionados longitudinalmente, permitindo que a cavidade formada pela pulpotomia e todo o tecido pulpar pudessem ser avaliados corretamente. Os dentes, acondicionados em cassetes histológicos unitários, foram lavados em água corrente por 12 horas para remover o excesso de ácido, e submetidos ao processamento histológico convencional utilizando um histotécnico automatizado (Leica – TP 1010, Alemanha) e posteriormente embebidos em parafina, obtendo blocos histológicos. Cortes histológicos seriados de 6 µm de espessura foram obtidos dos blocos de parafina e corados com hematoxilina-eosina. A avaliação anátomo-histopatológica foi realizada no Serviço de Patologia da Universidade de Ribeirão Preto.

Macroscopicamente, todos os dentes pulpotomizados apresentaram as restaurações bem posicionadas e íntegras, sem a presença de fratura ou exposição do tecido pulpar ao meio bucal (Figura 4). Após a secção dos dentes, além das restaurações íntegras, foi possível observar as pastas testadas posicionadas dentro da cavidade, sobre o tecido pulpar exposto durante o procedimento de pulpotomia (Figura 5).



Figura 4. Vista vestibular dos dentes incisivos inferiores decíduos com as restaurações íntegras e posicionadas.



Figura 5. Dente seccionado, mostrando a pasta em posição sobre o tecido pulpar exposto.

A análise das amostras foi realizada em microscópio óptico (Eclipse E 600-Nikon, Japão), com base nas respostas teciduais às pastas testadas, comparando-as entre si e ao controle.

Por meio de análise histopatológica descritiva, diferentes eventos microscópicos foram avaliados, tais como:

1. Tipo do infiltrado inflamatório (células polimorfonucleares e/ou células mononucleares).
2. Intensidade da reação inflamatória.
3. Vascularização, por meio da presença e quantidade de vasos sanguíneos.
4. Presença de macrófagos e células gigantes multinucleadas.
5. Presença de necrose.
6. Presença de barreira de tecido mineralizado.
7. Presença de calcificação distrófica.

A intensidade da reação inflamatória foi estabelecida seguindo alguns critérios:

Leve: Escassas células inflamatórias dispersas no tecido conjuntivo.

Moderada: Grande quantidade de células inflamatórias dispostas focalmente.

Intensa ou severa: Grande quantidade de células inflamatórias difusas ou dispersas no tecido conjuntivo adjacente.



Resultados

Os achados microscópicos obtidos nas análises histopatológicas estão dispostos de maneira descritiva, divididos de acordo com o grupo e o período de tempo estudado. Como já mencionado anteriormente, em cada período de tempo, foi utilizado um dente decíduo inferior anterior isento de medicação (controle).

PERÍODO DE ESTUDO DE 7 DIAS

Pasta A (À base de hidróxido de cálcio)

Observou-se pequeno foco de necrose superficial no tecido em contato com o material capeador, com aumento da densidade vascular. Tecido de granulação com reação inflamatória crônica de moderada a intensa, formada predominantemente por linfócitos e macrófagos, foi observado (Figura 6). Em um espécime, células gigantes multinucleadas de corpo estranho eram evidenciadas no tecido pulpar inflamado (Figura 6). Tecido mineralizado não foi evidenciado neste período.

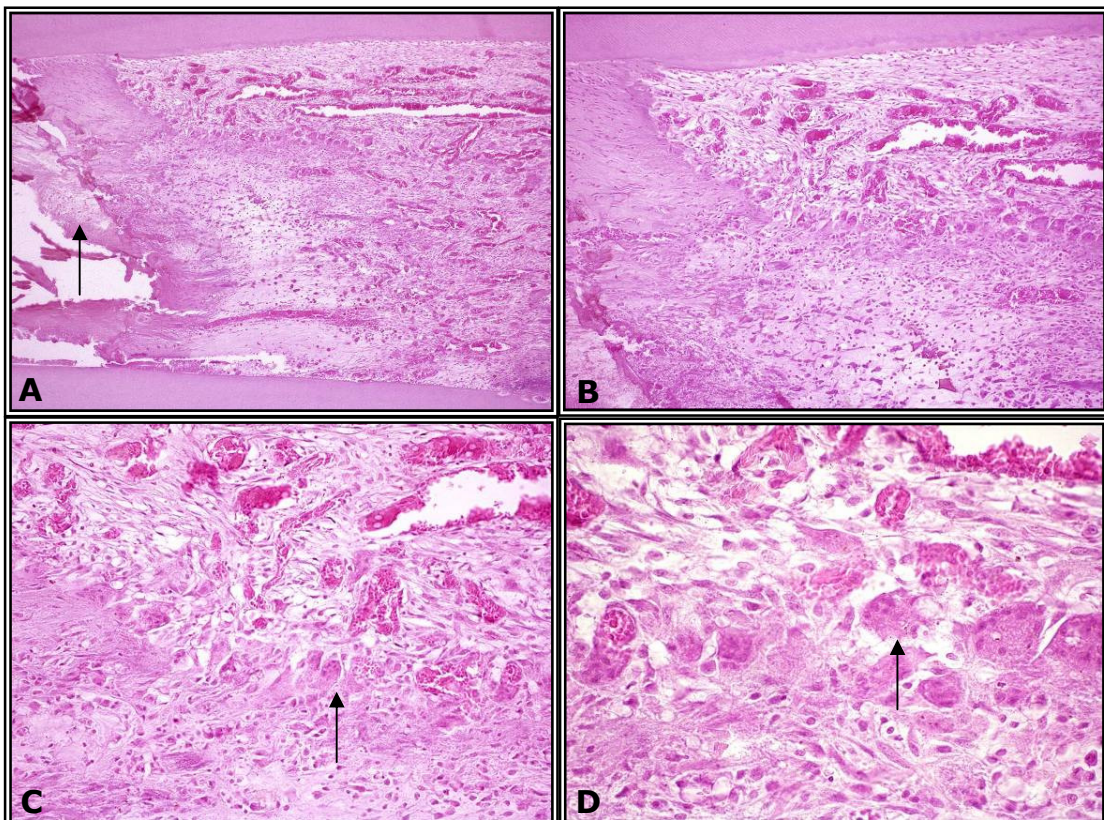


Figura 6. Fotomicrografias de dentes tratados com pasta à base de hidróxido de cálcio após 7 dias. A) Cavidade apresentou tecido com necrose superficial (seta) e tecido de granulação com reação inflamatória crônica moderada, além de vasos sanguíneos congestionados (aumento original, 50x). B) Vista de maior aumento da fotomicrografia anterior (aumento original, 100x). C) Células gigantes multinucleadas de corpo estranho (seta) em meio a uma reação inflamatória crônica de intensidade moderada (aumento original, 200x). D) Vista de maior aumento da fotomicrografia anterior (aumento original, 400x). Coloração de hematoxilina-eosina.

Pasta B (À base de extrato padronizado de própolis 80%)

O tecido pulpar na região de contato do material apresentou focos de necrose superficial. Na porção imediatamente abaixo da área de contato com o material capeador, observou-se reação inflamatória crônica de leve a moderada, composta predominantemente por linfócitos, além de grande quantidade de vasos sanguíneos hiperêmicos, caracterizando tecido de granulação (Figura 7). Curiosamente, em um espécime, notou-se o início da formação de tecido mineralizado, que se apresentou segmentado, com inúmeras células colunares em toda sua periferia, compatíveis com odontoblastos (Figura 7). Esse tecido mineralizado, provavelmente dentina reparadora, não apresentou evidências de formação de canalículos dentinários. Além disso, no tecido pulpar, também foi possível observar áreas hemorrágicas e presença de pigmento enegrecido compatível com hemossiderina. Células gigantes multinucleadas e calcificações distróficas não foram observadas.

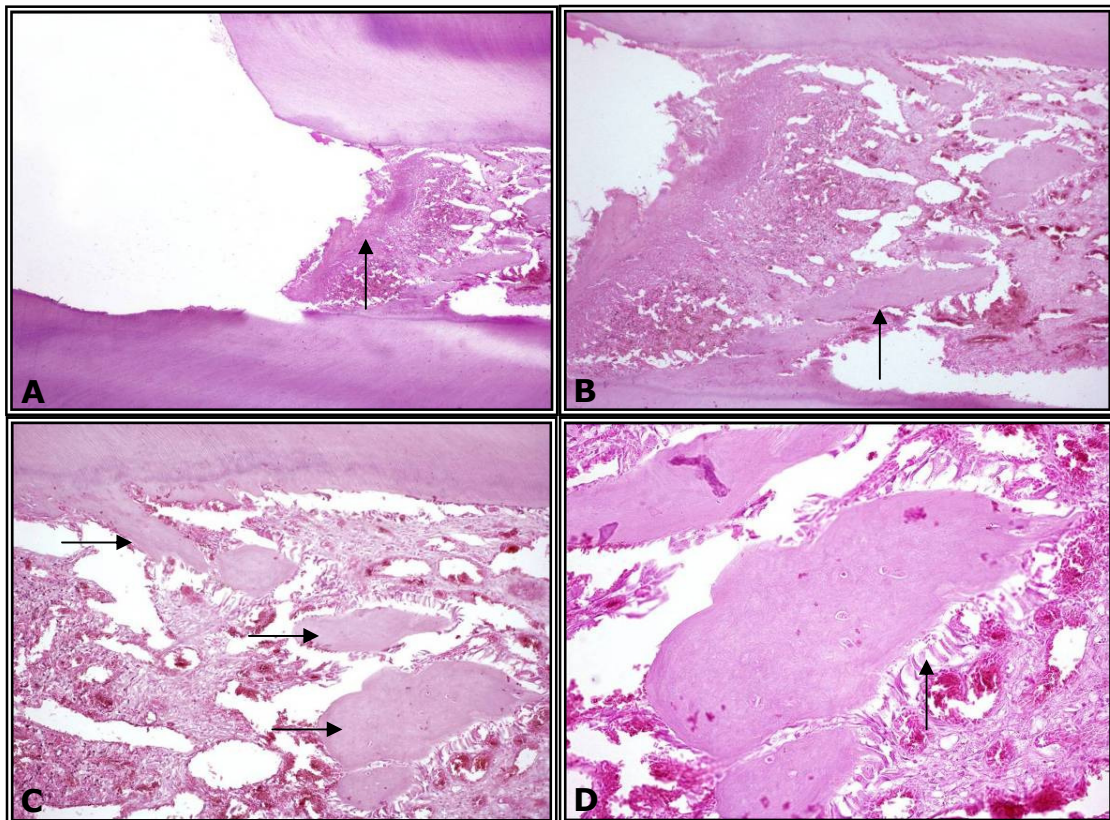


Figura 7. Fotomicrografias de dentes tratados com pasta à base de extrato padronizado de própolis 80% após 7 dias. A) Cavidade com tecido pulpar exposto, apresentou foco de necrose superficial (seta) na região de contato com o material (aumento original, 25x); B) Área de maior aumento na mesma região documentada na fotomicrografia anterior (aumento original, 50x); C) Tecido de granulação com reação inflamatória crônica moderada, com início de formação de uma barreira mineralizada sobre o tecido pulpar exposto (setas) (aumento original, 100x); D) Tecido mineralizado sem a presença de canálculos, com células colunares semelhantes a odontoblastos localizadas na sua periferia (seta) (aumento original, 200x). Coloração de hematoxilina-eosina.

Pasta C (Associação entre Pasta A e Pasta B)

O material capeador se manteve posicionado na cavidade. Na cavidade pulpar foi possível observar tecido de granulação com reação inflamatória crônica de intensidade leve a moderada, predominantemente formada por linfócitos e macrófagos, associada à presença de vasos sanguíneos congestionados (Figuras 8, 9 e 10). Células gigantes multinucleadas, calcificações distróficas e barreira mineralizada não foram observadas nestes espécimes.

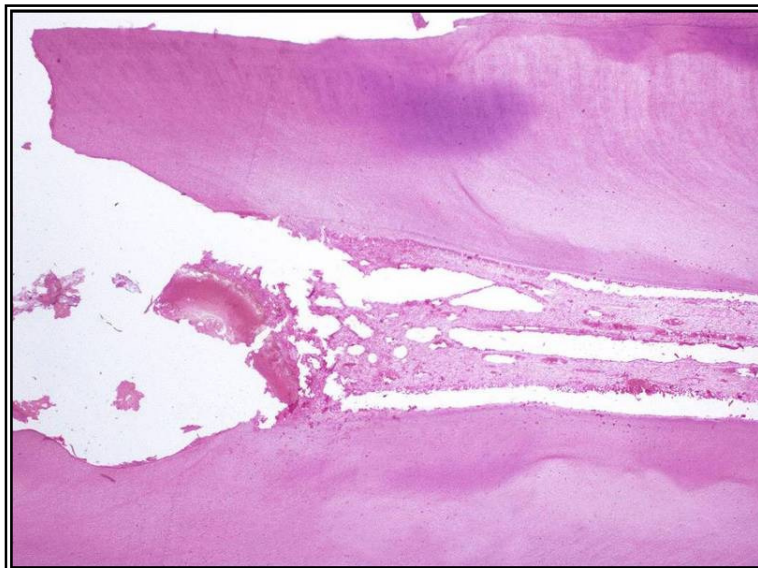


Figura 8. Fotomicrografia de dentes tratados com pasta-C à base hidróxido de cálcio associado ao extrato padronizado de própolis; região da cavidade, com tecido pulpar exposto (hematoxilina-eosina, aumento original, 25x).

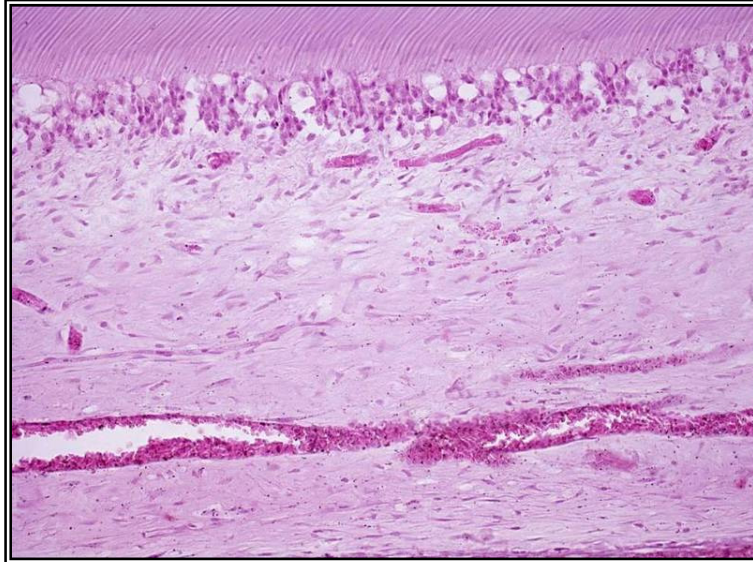


Figura 9. Fotomicrografia de dentes tratados com pasta-C à base hidróxido de cálcio associado ao extrato padronizado de própolis; tecido pulpar abaixo da área de exposição, com vasos sanguíneos congestionados e discreta reação inflamatória crônica (hematoxilina-eosina, aumento original, 200x).

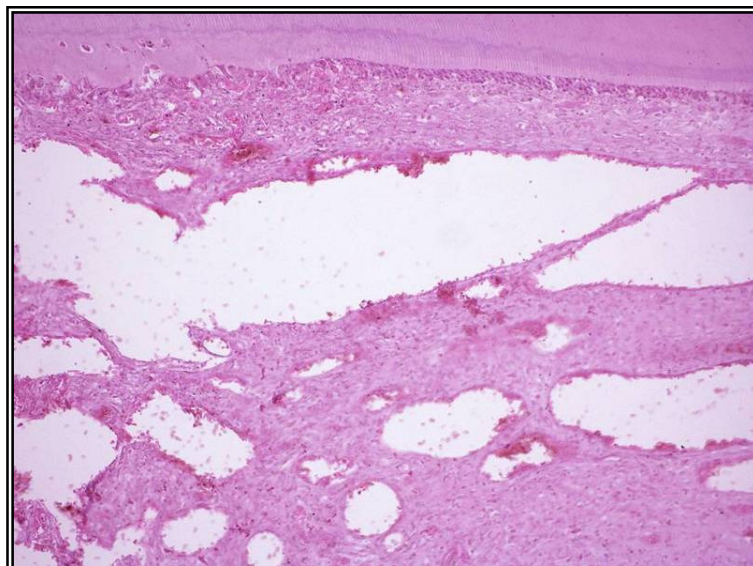


Figura 10. Fotomicrografia de dentes tratados com pasta-C à base hidróxido de cálcio associado ao extrato padronizado de própolis; tecido de granulação com reação inflamatória crônica moderada (hematoxilina-eosina, aumento original, 100x).

Controle (Penso de algodão)

No tecido pulpar superficial localizado na superfície da cavidade, observou-se a formação de intensa reação inflamatória aguda (abscesso) e necrose (Figuras 11, 12 e 13). Logo abaixo, notou-se reação inflamatória crônica intensa formada predominantemente por linfócitos, além de vasos sanguíneos hiperêmicos. O restante do tecido pulpar localizado no canal radicular apresentou-se com aspecto de normalidade, embora com discreta reação inflamatória crônica. Células gigantes multinucleadas ou quaisquer formas de tecido mineralizado não foram observadas.

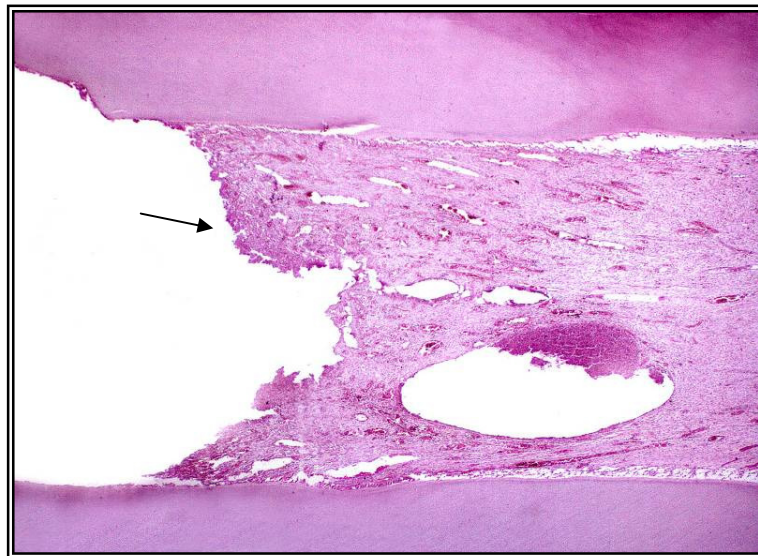


Figura 11. Fotomicrografia de dentes tratados com penso de algodão, controle, região da cavidade, com tecido pulpar exposto (hematoxilina-eosina, aumento original, 25x).

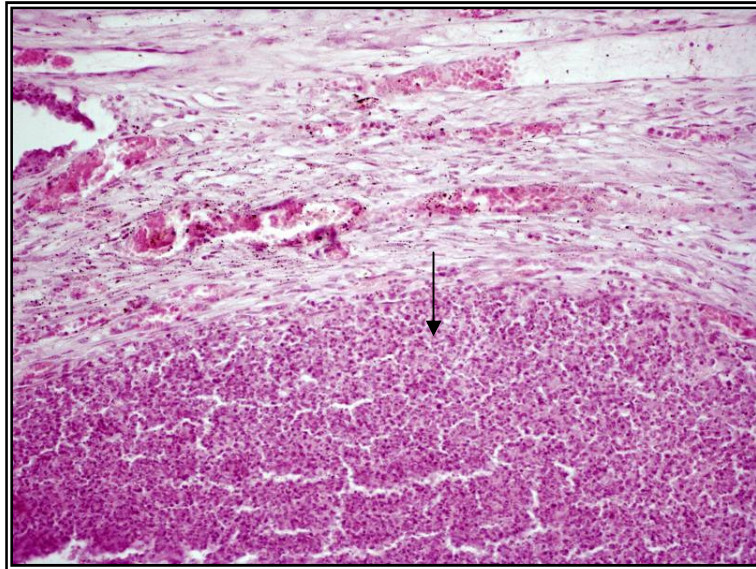


Figura 12. Fotomicrografia de dentes tratados com penso de algodão, controle, intensa reação inflamatória aguda (abscesso) (hematoxilina-eosina, aumento original, 200x).

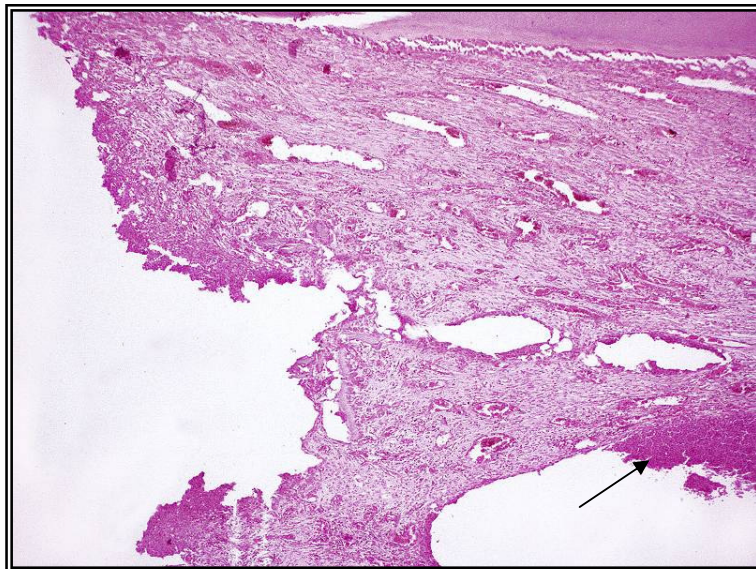


Figura 13. Fotomicrografia de dentes tratados com penso de algodão, controle, abscesso intenso (hematoxilina-eosina, aumento original, 100x).

PERÍODO DE ESTUDO 21 DIAS

Pasta A (À base de hidróxido de cálcio)

Nesse grupo de estudo, notou-se, na maioria das amostras, a presença de barreira formada por tecido mineralizado, que recobriu completamente o tecido pulpar exposto no capeamento. O tecido que formou a barreira mineralizada não apresentou canalículos, tratando-se provavelmente de dentina reparadora. O tecido pulpar logo abaixo dessa barreira mineralizada apresentou reação inflamatória que variou de leve a moderada, predominantemente linfocítica. Macrófagos, vasos sanguíneos congestos e hemorragia antiga, com pigmento de hemossiderina, também foram observados. Entretanto, necrose ou células gigantes multinucleadas de corpo estranho não foram notadas em nenhuma amostra, bem como a presença de calcificação distrófica.

Pasta B (À base de extrato padronizado de própolis 80%)

Na região onde o tecido pulpar foi exposto ao medicamento, observou-se a formação de barreira de tecido mineralizado compatível com dentina reparadora, que recobria parcialmente o tecido pulpar exposto. Abaixo, notou-se, a presença de tecido pulpar com reação inflamatória crônica leve, formada em sua maioria por linfócitos. Necrose, células gigantes multinucleadas de corpo estranho ou quaisquer outras alterações degenerativas não foram observadas.

Pasta C (Pasta A + pasta B associação)

A faixa de tecido pulpar em contato com a pasta formada pela associação entre hidróxido de cálcio e própolis apresentou-se com reação inflamatória crônica de leve a moderada, predominantemente formada por linfócitos, embora macrófagos também tenham sido observados. Logo abaixo da área de contato com o material, notou-se a presença de tecido com reação inflamatória crônica discreta. Entretanto, houve a formação de barreira de tecido mineralizado, que recobriu parcialmente o tecido pulpar exposto durante a pulpotomia (Figura 14). Esse tecido calcificado, como ocorreu nos demais grupos onde foi observado, não apresentou canalículos, sendo compatível com dentina reparadora. Necrose, células gigantes multinucleadas de corpo estranho e calcificações distróficas não foram observadas.

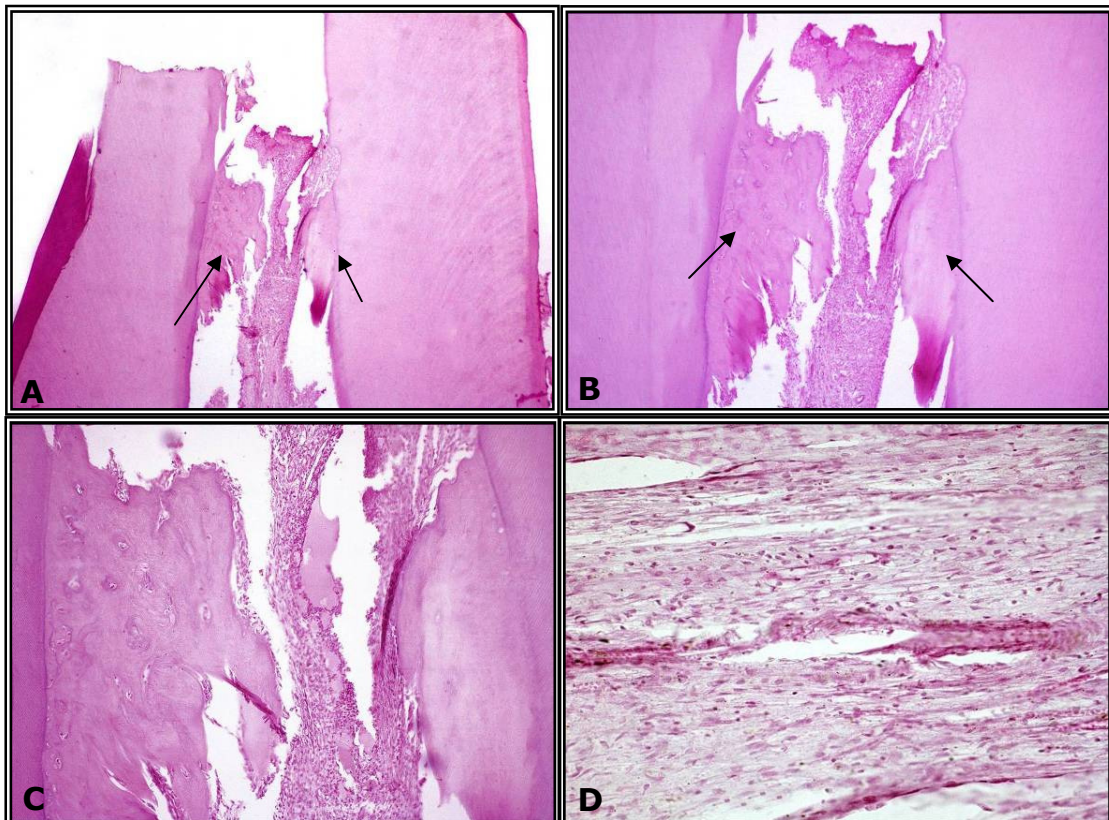


Figura 14. Fotomicrografias de dentes tratados com pasta-C à base hidróxido de cálcio associado ao extrato padronizado de própolis. A) Região da cavidade, onde se observou a presença de uma barreira de tecido mineralizado compatível com dentina reparadora (setas), que recobre parcialmente o tecido pulpar exposto (aumento original, 25x). B) Vista em maior aumento da área observada na fotomicrografia anterior (aumento original, 50x). C) Barreira parcial de tecido duro compatível com dentina reparadora (aumento original, 100x). D) Tecido pulpar abaixo da área de contato com o material, com uma reação inflamatória crônica leve (aumento original, 200x). Coloração de hematoxilina-eosina.

Controle (Penso de algodão)

O tecido pulpar exposto durante a pulpotomia apresentou reação inflamatória crônica, que variou de moderada a intensa. Linfócitos foram as células mais comumente observadas. Tecido calcificado compatível com dentina reparadora foi observado em finas camadas, adjacente às paredes internas dos canais radiculares. Não foram observadas células gigantes multinucleadas, necrose ou áreas com calcificação distrófica.

PERÍODO DE ESTUDO 42 DIAS

Pasta A (À base de hidróxido de cálcio)

Material utilizado no procedimento de pulpotomia ainda se encontrou em posição na cavidade, como descrito anteriormente na análise anátomo-patológica. Observou-se a presença de barreira formada por tecido mineralizado compatível com dentina reparadora, que recobriu todo o tecido pulpar anteriormente exposto (Figura 15). Essa barreira de tecido duro se apresentou com forma irregular e não mostrou canalículos. O tecido pulpar abaixo dessa barreira se mostrou com aspecto fibroso e isento de reação inflamatória ou de quaisquer outras alterações morfológicas significativas.

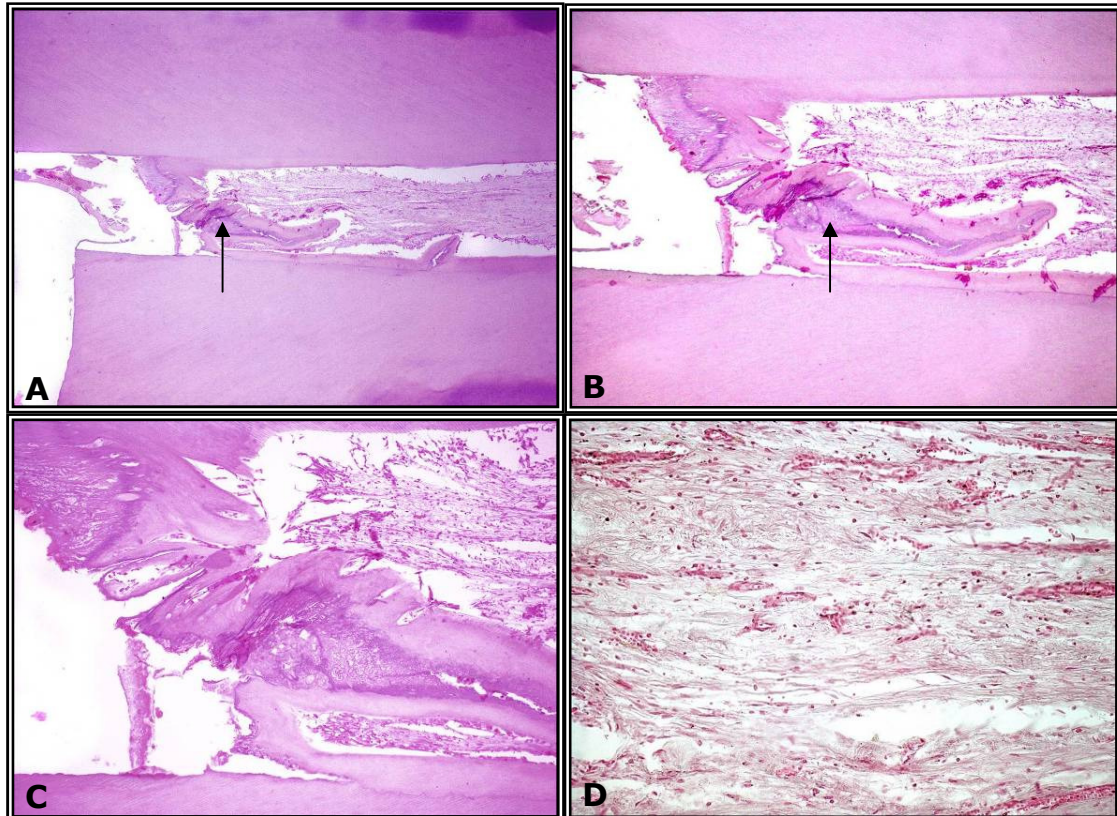


Figura 15. Fotomicrografia de dentes tratados com pasta-A à base de hidróxido de cálcio. A) Nesse aumento, já observou-se a barreira de tecido duro que recobre totalmente a polpa que foi exposta (seta) (aumento original, 25x). B) Vista de maior aumento, onde observa-se com maior detalhe a barreira de tecido duro formada (seta) (aumento original, 50x). C) Barreira mineralizada com aspecto irregular (aumento original, 100x). D) Tecido pulpar com aspecto mais fibrosado, sem a presença de reação inflamatória (aumento original, 200x). Coloração de hematoxilina-eosina.

Pasta B (À base de extrato padronizado de própolis 80%)

Após 42 dias, as características morfológicas encontradas nesse grupo de estudo foram similares às descritas no grupo acima. Observou-se barreira formada por tecido mineralizado compatível com dentina reparadora que recobriu todo o tecido pulpar que foi exposto durante o procedimento da pulpotomia. O tecido pulpar se mostrou mais fibroso e sem a presença de reação inflamatória. Células gigantes multinucleadas, necrose ou calcificações distróficas não foram observadas.

Pasta C (Pasta A + pasta B associação)

Aspectos morfológicos semelhantes aos descritos nos grupos tratados com as Pastas A e B; apresentou barreira formada por tecido mineralizado compatível com dentina reparadora, que recobriu todo o tecido pulpar que foi exposto, o qual se mostrou mais fibroso e sem a presença de reação inflamatória. Da mesma forma que nos grupos anteriores, não foram observadas células gigantes multinucleadas, necrose ou áreas com calcificações distróficas.

Controle (Penso de algodão)

O tecido pulpar exposto mostrou-se com reação inflamatória crônica que, variou de leve a moderada. Tecido mineralizado compatível com dentina reparadora foi observado nas paredes dos canais radiculares, mas não recobriram totalmente o tecido pulpar exposto. Necrose, células gigantes multinucleadas e calcificações distróficas eram ausentes.



Discussão

A pulpotomia tem como objetivo remover a porção coronária do tecido pulpar, que se apresenta contaminada e com uma reação inflamatória de intensidade variável, e colocação de um medicamento sobre o tecido pulpar exposto, preservando a vitalidade da polpa radicular. Esse procedimento é indicado principalmente em dentes decíduos e permanentes jovens, que possuem um tecido pulpar com maior capacidade de reparação. Postula-se também que quanto maior a intensidade da reação inflamatória pulpar, menor é o índice de sucesso. O hidróxido de cálcio é o medicamento mais utilizado nas pulpotomias, embora outras substâncias também tenham sido empregadas. A maioria delas, inclusive o hidróxido de cálcio, além de provocar a diminuição da reação inflamatória pulpar com conseqüente manutenção da sua vitalidade, está associada à formação de uma barreira de tecido mineralizado que recobre todo o tecido pulpar exposto (PERILLO et al., 1998; STOCKTON, 1999; DOMINGUEZ et al., 2003; NAKAMURA et al., 2004; CENGIZ et al., 2005; HUTH et al., 2005; MARKOVIC et al., 2005; ALBUQUERQUE et al., 2006).

Para avaliar o sucesso clínico e radiográfico de dentes submetidos à pulpotomia ou capeamento pulpar, vários métodos e exames têm sido utilizados, como teste de sensibilidade elétrica ou térmica, presença de dor ou aumento de volume e sinais radiográficos de patologia periapical ou nos tecidos vizinhos (HUTH et al., 2005; MARKOVIC et al., 2005). Entretanto, para se examinar o estado do tecido pulpar e a qualidade da barreira de tecido duro formada após a pulpotomia,

utilizando qualquer tipo de medicamento, é necessária a análise microscópica desses dentes (NAKAMURA et al., 2004; CENGIZ et al., 2005; SABIR et al., 2005; NAKAMURA et al., 2006; TUNÇ et al., 2006). Em humanos, a realização de estudos onde se avaliam as características microscópicas de dentes submetidos à pulpotomia, geralmente esbarra em restrições éticas, seja pelo desenho do próprio estudo ou pela quantidade de espécimes que são normalmente necessários para se obter resultados consistentes.

Vários modelos de estudo *in vivo* têm sido empregados em experimentos que avaliam a efetividade de determinado medicamento utilizado em pulpotomia. Um método comumente empregado, consiste na inserção do material a ser estudado sobre o tecido pulpar exposto em dentes de animais, principalmente de cães e ratos (SABIR et al., 2005; ALBUQUERQUE et al., 2006; BRISO et al., 2006; TUNÇ et al., 2006). Após períodos de tempos pré-determinados, esses animais são sacrificados, os dentes extraídos ou removidos em bloco, processados e avaliados microscopicamente. Porém, os dois modelos citados apresentam algumas desvantagens. Embora o tecido pulpar de cães apresente características histológicas e capacidade reativa aos estímulos similares ao tecido pulpar humano, quando há necessidade de um número maior de amostras em um experimento, o estudo utilizando cães, atualmente, é dificultado devido às restrições éticas (HAMPSHIRE, 2003). O rato, por outro lado, é um modelo experimental que representa satisfatoriamente o organismo de um mamífero, além de apresentar

um tamanho que permite o manejo mais fácil e seguro (HEDRICH, 2000; RODRIGUES SOSA, 2004), porém a cavidade bucal e os seus dentes apresentam dimensões muito reduzidas, causando dificuldade na realização de procedimentos onde há necessidade de manipulação dentária, como a pulpotomia. Outro fator limitante em relação ao rato, é reproduzir procedimentos endodônticos normalmente realizados em humanos, pela dificuldade em realizar isolamento absoluto, visualização adequada do campo de trabalho e pelo fato desse animal apresentar tecido pulpar mais resistente quando submetido a um determinado estímulo, o que seria uma desvantagem importante, particularmente no método proposto por este estudo.

Uma alternativa ainda muito pouco explorada é a utilização de suínos para estudos dessa natureza (JEAN et al., 1988; WILKERSON et al., 1996; JEPSEN et al., 1997; NAKAMURA et al., 2002; NAKAMURA et al., 2004; NAKAMURA et al., 2006), como foi realizado nessa pesquisa. Esses animais representam bem o organismo dos mamíferos, apresentam dentes com dimensões e estruturas adequadas para o estudo, além do que sua carne pode ser utilizada para o consumo após procedimentos dessa natureza, diminuindo restrições do ponto de vista ético. Além disso, apresenta similaridades anatômicas e fisiológicas com os seres humanos (WANG et al., in press). Entretanto, a eventual desvantagem é a necessidade de se ter ambiente adequado, exclusivo para a manutenção dos animais, além do manejo que pode ser mais difícil devido às suas dimensões. Em

outros tipos de estudo onde há necessidade do uso de dentes, como testes *in vitro* de adesividade dentinária, este modelo também pode ser utilizado, visto o esmalte e a dentina de dentes humanos e suínos apresentam várias semelhanças ultra-estruturais (LOPES et al., 2006).

O acesso à câmara pulpar para a realização da pulpotomia foi realizado, neste estudo, na face vestibular dos incisivos inferiores por permitir melhor visualização e campo de trabalho. Esse procedimento também foi realizado por MENEZES et al. (2004) em pulpotomia, porém, em dentes de cães.

Um aspecto relevante neste estudo diz respeito a utilização do extrato padronizado de própolis EPP – AF (Apis Flora, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil), que contempla quantidades definidas de própolis de várias regiões do Brasil com princípios ativos ou marcadores como a *Artepelin-c*, *Bacharina*, *Ácido p-cumárico* e *Drupanin*, sendo essas substâncias avaliadas e monitoradas qualitativa e quantitativamente. Em um experimento, a utilização de amostras de própolis com diferentes composições químicas pode gerar resultados distintos e eventualmente duvidosos, uma vez que a sua composição química é muito complexa, variando principalmente de acordo com a região e a espécie de abelha que a produz (BANKOVA, 2005; SALATINO et al., 2005).

O hidróxido de cálcio apresenta propriedades anti-bacterianas, além de possuir compatibilidade tecidual favorável. Vários estudos testaram o hidróxido de cálcio como material para proteção pulpar (JEAN et al., 1988; PERILLO et al.,

1998; CENGIZ et al., 2005; ALBUQUERQUE et al., 2006; BRISO et al., 2006; TUNÇ et al., 2006). Embora haja um aumento do número de casos de insucesso clínico após pulpotomia com hidróxido de cálcio se o seguimento pós-tratamento é mais longo (OLSSON et al., 2006), a maioria dos estudos *in vivo* mostra que esse material apresenta bom desempenho após pulpotomia, com altos índices de formação de barreira de material mineralizado que recobre o tecido pulpar exposto, promovendo a manutenção da integridade e vitalidade pulpar (ALBUQUERQUE et al., 2006; TUNÇ et al., 2006).

No presente estudo, os dentes que foram submetidos à pulpotomia com hidróxido de cálcio não apresentaram necrose da polpa radicular, característica que sugere que a manutenção da vitalidade pulpar. Após 42 dias da realização da pulpotomia com hidróxido de cálcio, além da barreira de tecido mineralizado que se formou, a polpa se mostrava mais fibrosa, sem a presença de reação inflamatória. No entanto, esse tecido pulpar com maior concentração de tecido fibroso, se for submetido à nova agressão, talvez não consiga responder da mesma forma que reagiu quando ainda estava hígido.

Com relação à formação de barreira dentinária, o presente estudo revelou excelentes resultados quando da aplicação do extrato padronizado de própolis como medicação durante a pulpotomia, com presença de barreira parcial de tecido mineralizado decorridos 21 dias e recobrindo totalmente o tecido pulpar exposto após 42 dias. Resultados semelhantes aos 21 dias foram observados por SABIR et

al. (2005) em dentes de ratos. Esses resultados provavelmente estão relacionados à propriedade antiinflamatória da própolis, além da capacidade em causar menor agressão tecidual (KHAYYAL et al., 1993; SILVA et al., 2004; TAN-NO et al., 2006), conferida pela presença de flavonóides, ácidos aromáticos e ésteres (SABIR et al., 2005). O extrato padronizado de própolis EPP – AF possui concentrações definidas dessas substâncias o que possibilita a obtenção de resultados favoráveis em relação atividade antiinflamatória e reparadora. Como agente antiinflamatório, é observado que a própolis inibe a síntese de prostaglandinas, a produção de óxido nítrico, estimula a imunidade celular e aumenta a capacidade de reparação (KOO et al., 2000; TAN-NO et al., 2006).

Curiosamente, em um espécime tratado com o extrato padronizado de própolis a 80% e avaliado depois de 7 dias da pulpotomia, pôde-se observar o início da formação de tecido mineralizado compatível com dentina reparadora, apresentando na sua periferia células colunares semelhantes a odontoblastos. Apesar de interessante, esse dado deve ser avaliado com cautela, visto que foi observado em apenas um espécime. Eventualmente, outros experimentos podem confirmar tal fato. Não há relato semelhante na literatura consultada. A propriedade antiinflamatória da própolis, além da capacidade em causar menor agressão tecidual (KHAYYAL et al., 1993; SILVA et al., 2004; TAN-NO et al., 2006), pode ter desempenhado papel importante na formação precoce do tecido mineralizado, pois permite um ambiente mais favorável para a reorganização do

tecido lesado e conseqüentemente alcançar a reparação adequada. Além disso, a própolis também contém elementos, como zinco e ferro, que são importantes para a síntese de colágeno (MARCUCCI, 1995).

SABIR et al. (2005) avaliaram histologicamente o tecido pulpar de ratos submetidos à pulpotomia com própolis (flavonóide e não-flavonóide), evidenciando reação inflamatória inicial após 1 semana no tecido pulpar de dentes tratados com própolis não-flavonóide. Entretanto, naqueles tratados com própolis flavonóide, notou-se reação inflamatória tardia (de leve a moderada), com formação de barreira parcial de tecido mineralizado depois de 4 semanas. Ao contrário, no presente estudo, observou-se reação inflamatória crônica que variou de leve a moderada no período inicial (7 dias) e uma reação inflamatória crônica leve em período tardio (21 dias), no tecido pulpar dos dentes submetidos a pulpotomia. Após 42 dias, havia maior formação de tecido fibroso, com ausência de reação inflamatória. Estes achados, como observados nos dentes tratados com hidróxido de cálcio, sugerem que os dentes tratados com pasta à base de própolis mantiveram sua vitalidade.

AL-SHAHER et al. (2004) avaliaram os efeitos de diferentes concentrações da própolis sobre fibroblastos de polpa dentária mantidos em cultura e verificaram que, na concentração de até 1 mg/ml, a própolis não causou efeitos citotóxicos nessas células. Entretanto, em concentrações de 2 e 4 mg/ml, essa substância reduziu 50% da viabilidade celular de fibroblastos oriundos do tecido pulpar.

Devido às características e propriedades apresentadas tanto pela própolis quanto pelo hidróxido de cálcio, a utilização de uma pasta medicamentosa composta por essas duas substâncias poderia render benefícios importantes para o tratamento de afecções endodônticas. Assim, nesse estudo, utilizou-se a associação do extrato padronizado de própolis a 80% e hidróxido de cálcio, que apresentou desempenho semelhante às substâncias utilizadas isoladamente, exceto aos 21 dias, onde foi observada uma reação inflamatória ligeiramente mais intensa nos dentes tratados com associação das pastas, quando comparado ao uso isolado de cada uma delas. Outro estudo, embora tenha utilizado um modelo de estudo diferente, observou que a associação entre as duas substâncias foi menos irritante ao tecido subcutâneo de ratos quando comparada às substâncias aplicadas isoladamente (OLIVEIRA, 2004).

No presente estudo, comparando os resultados obtidos ao utilizar as diferentes pastas, pôde-se observar que aos 7 dias, os dentes tratados com hidróxido de cálcio apresentaram reação inflamatória mais intensa quando comparados aos dentes que foram tratados com a pasta de extrato padronizado de própolis a 80% e com a associação do extrato padronizado de própolis a 80%/hidróxido de cálcio. Aos 21 dias, os tecidos pulpare tratados com pasta à base de extrato padronizado de própolis a 80% mostraram uma reação inflamatória mais branda em comparação àqueles tratados com pasta à base de hidróxido de cálcio e pasta obtida pela associação entre extrato padronizado de própolis e hidróxido de cálcio. Esses achados provavelmente são conseqüências

das propriedades antiinflamatórias da própolis e por apresentar menor grau de irritação tecidual (SILVA et al., 2004; TAN-NO et al., 2006). Já após 42 dias, todos os dentes apresentaram tecido pulpar remanescente sem a presença de reação inflamatória, independente da pasta utilizada na pulpotomia. Quanto a formação da barreira de tecido mineralizado, após 42 dias, todas as pastas testadas proporcionaram a formação desse tecido, que recobria completamente o tecido pulpar. Com estes resultados, sem dúvida, mais estudos devem ser realizados, de forma que as reações provocadas pela própolis e suas associações sejam mais bem conhecidas e estabelecidas.

O uso de apifitomedicamentos não isenta o organismo de possíveis efeitos adversos. A própolis é um fitocomplexo formado por dezenas de substâncias. Atualmente, cerca de 180 compostos já foram identificados, sendo que a maioria delas apresenta potencial alergênico. Relatos de alergia à própolis têm sido freqüentes na literatura e variam entre 1.2% e 6.5% (RIEDER et al., 2001; WOEHLER et al., 2001). Recentemente, foi relatada a ocorrência de hipersensibilidade de contato tardia na mucosa bucal de uma paciente depois de dez dias da utilização de solução tópica de própolis para o tratamento de ulcerações aftosas recorrentes. Testes subcutâneos posteriores revelaram que a paciente possuía hipersensibilidade à própolis (BRAILO et al., 2006). Assim, ao usar a própolis para quaisquer fins ou circunstâncias, embora incomum, há a probabilidade de o paciente desenvolver reação alérgica ao material.

Devidos aos poucos estudos testando o uso da própolis na Odontologia, principalmente na Endodontia, e aos bons resultados obtidos nesse estudo, há a necessidade de se desenvolver novos experimentos para comprovar sua eficiência como medicamento para pulpotomias e também como medicação intra-canal, para o melhor conhecimento das reações que essa substância pode provocar quando em contato com o tecido pulpar. Com relação ao modelo de estudo, embora os suínos apresentem dificuldade para o manejo devido as suas dimensões, eles podem ser alternativas viáveis para o estudo das reações do complexo dentina-polpa, devendo ser mais explorados e utilizados para os estudos dessa natureza.



Conclusões

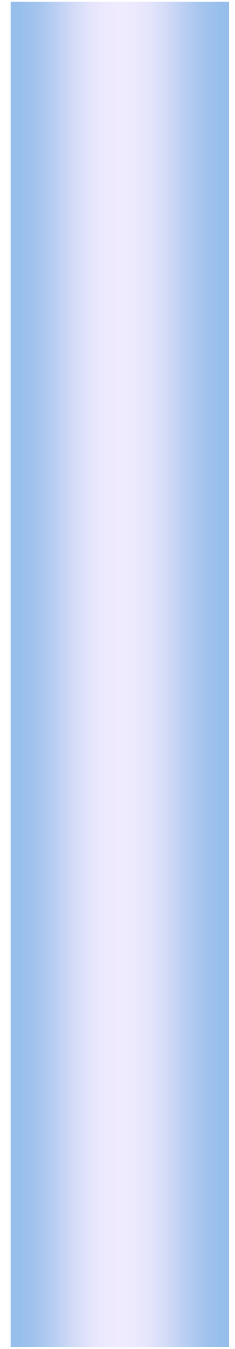
De acordo com a análise dos eventos histopatológicos ocorridos nos períodos de observação propostos neste estudo, é possível concluir que:

1. Após 7 dias, o tecido pulpar tratado pasta à base de hidróxido de cálcio apresentou reação inflamatória crônica de intensidade moderada a severa, sem a presença de barreira mineralizada, enquanto que, os dentes tratados com as pastas à base de extrato padronizado de própolis a 80% e associação entre extrato padronizado de própolis 80% e hidróxido de cálcio, apresentaram inflamação de intensidade leve a moderada.
2. Observou-se início da formação de tecido mineralizado em um dente tratado com pasta à base de extrato padronizado de própolis a 80%, após 7 dias.
3. Os tecidos pulpares que receberam pasta à base de extrato padronizado de própolis a 80%, após 21 dias, mostraram reação inflamatória leve e formação parcial de barreira mineralizada.
4. Os dentes tratados com as pastas à base de hidróxido de cálcio e a associação entre hidróxido de cálcio e extrato padronizado de própolis a 80%, após 21 dias, apresentaram inflamação de intensidade leve a moderada, com formação de barreira mineralizada

completa naqueles tratados com pasta à base hidróxido de cálcio e parcial nos que receberam a pasta de associação.

5. Após 42 dias, os tecidos pulpares tratados com todas as pastas testadas apresentaram sem reação inflamatória, com maior deposição de tecido fibroso. E, todos os dentes, independente da pasta utilizada, mostraram formação completa de barreira de tecido mineralizado.

6. Em todos os períodos experimentais, as pastas de hidróxido de cálcio, extrato padronizado de própolis a 80% e a associação entre elas, mostraram-se eficientes na formação da barreira de tecido duro, recobrando o tecido pulpar exposto e contribuindo para a manutenção da vitalidade pulpar.



Referências Bibliográficas

AEINEHCHI, M.; DADVAND, S.; FAYAZI, S.; BAYAT-MOVAHED, S. Randomized controlled trial of mineral trioxide aggregate and formocresol for pulpotomy in primary molar teeth. **Int. Endod. J.**, v. 40, n. 4, p. 261-267, 2007.

ALBUQUERQUE, D. S.; GOMINHO, L. F.; SANTOS, R. A. Histologic avaluation of pulpotomy performed with ethyl-cyanoacrylate and calcium hydroxide. **Braz. Oral Res.**, v. 20, n. 3, p. 226-230, 2006.

AL-SHAHER, A.; WALLACE, J.; AGARWAL, S.; BRETZ, W.; BAUGH, D. Effect of propolis on human fibroblasts and periodontal ligament. **J. Endod.**, v. 30, n. 5, p. 359-361, 2004.

BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. **J. Ethnopharmacol.**, v. 100, n. 1-2, p. 114-117, 2005.

BERRETTA, A. A. **Desenvolvimento e avaliação de uma forma farmacêutica de liberação sustentada contendo extrato padronizado de própolis para o tratamento de queimaduras** . Ribeirão Preto, 2003, 78p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP.

BRAILO, V.; BORAS, V. V.; ALAJBEG, I.; JURAS, V. Delayed contact sensitivity on the lips and oral mucosa due to propolis-case report. **Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal**, v. 11, n. 4, p. 303-304, 2006.

BRETZ, W. A.; CHIEGO-JR, D. J.; MARCUCCI, M. C.; CUNHA, I.; CUSTÓDIO, A.; SCHNEIDER, L. G. Preliminary report on the effects of própolis on wound healing in the dental pulp. **Z. Naturforsch**, v. 53, n. 11-12, p. 1045 - 1048, 1998.

BRISO, A. L.; RAHAL, V.; MESTRENER, S. R.; DEZAN JUNIOR, E. Biological response of submitted to different capping materials. **Pesqui. Odontol. Bras.**, v. 20, n. 3, p. 219-225, 2006.

CENGIZ, S. B.; BATIRBAYGIL, Y.; ONUR, M. A.; ATILLA, P.; ASAN, E.; ALTAY, N.; CEHRELI, Z. C. Histological comparison of alendronate, calcium hydroxide and formocresol in amputated rat molar. **Dental Traumatol.**, v. 21, n. 5, p. 281-288, 2005.

CONRADO, C. A. Remineralization of carious dentin. I: In vitro microradiographic study in human teeth capped with calcium hydroxide. **Braz. Dent. J.**, v. 15, n. 1, p. 59-62, 2004a.

CONRADO, C. A. Remineralization of carious dentin. II: In vivo microradiographic and chemical studies in human permanent teeth capped with calcium hydroxide. **Braz. Dent. J.**, v. 15, n. 3, p. 186-189, 2004b.

CVEK, M. Treatment of non-vital permanent incisors with calcium hydroxide. **Odont. Rev.**, v. 23, n. 1, p. 27-44, 1972.

DOMINGUEZ, M. S.; WITHERSPOON, D. E.; GUTMANN, J. L.; OPPERMAN, L. A. Histological and scanning electron microscopy assessment of various vital pulp-therapy materials. **J. Endod.**, v. 29, n. 5, p. 324-333, 2003.

DUARTE, S.; KOO, H.; BOWEN, W. H.; HAYACIBARA, M. F.; CURY, J. A.; IKEGAKI, M.; ROSALEN, P. L. Effect of a novel type of propolis and its chemical fractions on glucosyltransferases and on growth and adherence of mutans streptococci. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 26, n. 4, p. 527-531, 2003.

FARHAD, A.; MOHAMMADI, Z. Calcium hidroxide: a review. **Int. Dent. J.**, v. 55, n. 5, p. 293-301, 2005.

FERNANDES JUNIOR, A. ; BALESTRIN, E. C.; BETONI, J. E. C.; ORSI, R. O.; CUNHA, M. L. R. S.; MONTELLI, A. C. Propolis: anti-staphylococcus aureus activity and synergism with antimicrobial drugs. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 5, p. 563-566, 2005.

FRANCO, S. L.; BUENO, J. H. F. Otimização do processo extrativo de própolis. **Infarma**, v. 11, n. 11-12, p. 45-48, 1999.

GRAHAM, L.; COOPER, P. R.; CASSIDY, N.; NOR, J. E.; SLOAN, A. J.; SMITH, A. J. The effect of calcium hydroxide on solubilisation of bio-active dentine matrix components. **Biomaterials**, v. 27, n. 14, p. 2865-2873, 2006.

HAMPSHIRE, V. A. Regulatory issues surrounding the use of companion animals in clinical investigations, trials, and studies. **ILAR J.**, v. 44, n. 3, p. 191-196, 2003.

HEDRICH, H. J. History, strains and models. In: KRINGE, G. L. **The laboratory rat**. London, Academic Press, 2000. Cap. 1, p. 3-16.

HELFENBERG, K. D. **The analysis of beeswax und propolis**. In: Chemikerzeitung, German, 1908. Cap. 31, p. 987-988.

HUTH, K. C.; PASCHOS, E.; HAJEK-AL-KHATAR, N.; HOLLWECK, R.; CRISPIN, A.; HICKEL, R.; FOLWACZNY, M. Effectiveness of 4 pulpotomy techniques-randomized controlled trial. **J. Dent. Res.**, v. 84, n. 12, p. 1144-1148, 2005.

JEAN, A.; KEREBEL, B.; KEREBEL, L. M.; LEGEROS, R. Z.; HAMEL, H. Effects of various calcium phosphate biomaterials on reparative dentin bridge formation. **J. Endod.**, v.14, n. 2, p.83-87, 1988.

JEPSEN, S.; ALBERS, H. K.; FLEINER, B.; TUCKER, M.; RUEGER, D. Recombinant human osteogenic protein-1 induces dentin formation: an experimental study in miniature swine. **J. Endod.**, v. 23, n. 6, p. 378-382, 1997.

KHAYYAL, M. T.; EL-GHAZALY, M. A.; EL-KHATIB, A. S. Mechanisms involved in the antiinflammatory effect of propolis extract. **Drugs Exp. Res.**, v. 19, n. 5, p. 197-203, 1993.

KOO, H.; GOMES, B. P.; ROSALEN, P. L.; AMBROSANO, G. M.; PARK, Y. K.; CURY, J. A. In vitro antimicrobial activity of própolis and arnica montana against oral pathogens. **Arch. Oral Biol.**, v. 45, n. 2, p. 141-148, 2000.

LOPES, F. M.; MARKARIAN, R. A.; SENDYK, C. L.; DUARTE, C. P.; ARANA-CHAVEZ, V. E. Swine teeth as potential substitutes for in vitro studies in tooth adhesion: a sem observation. **Arch. Oral Biol.**, v. 51, n. 7, p. 548-551, 2006.

MACHADO, G. M. C.; LEON, L. L.; CASTRO, S. L. Activity of brazilian and bulgarian propolis against different species of leishmania. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 1, p. 73-77, 2007.

MANARA, L. R. B.; ANCONI, S. I.; GROMATSKY, A.; CONDE, M. C.; BRETZ, W. A. Utilização da própolis em odontologia. **Rev. Fac. Odontol. Bauru**, v. 7, n. 3-4, p. 15-20, 1999.

MARCUCCI, M. C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, v. 26, n. 2, p. 83-99, 1995.

MARCUCCI, M. C.; FERRERES, F.; GARCÍA-VIGUERA, C.; BANKOVA, V. S.; CASTRO, S. L.; DANTAS, A. P.; VALENTE, P. H. M.; PAULINO, N. Phenolic compounds from Brazilian própolis with pharmacological activities. **J. Ethnopharmacol.**, v. 74, n. 2, p. 105-112, 2001.

MARKOVIC, D.; ZIVOJINOVIC, V.; VUCETIC, M. Evaluation of three pulpotomy medicaments in primary teeth. **Eur. J. Paediatr. Dent.**, v. 6, n. 3, p. 133-138, 2005.

MENEZES, R.; BRAMANTE, C. M.; LETRA, A.; CARVALHO, V. G.; GARCIA, R. B. Histologic evaluation of pulpotomies in dog using two types of mineral trioxide aggregate and regular white Portland cements as wound dressings. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 98, n. 3, p. 376-379, 2004.

MIORIN, P. L.; LEVY JUNIOR, N. C.; CUSTODIO, A. R.; BRETZ, W. A.; MARCUCCI, M. C. Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus*. **J. Applied Microbiol.**, v. 95, n. 5, p. 913-920, 2003.

MURRAY, P. E.; KITASAKO, Y.; TAGAMI, J.; WINDSOR, L. J.; SMITH, A. J. Hierarchy of variables correlated to odontoblast-like cell numbers following pulp capping. **J. Dent.**, v. 30, n. 7-8, p. 297-304, 2002.

NAITO, Y.; YASUMURO, M.; KONDOU, K.; OHARA, N. Antiinflammatory effect of topically applied propolis extract in carrageenan-induced rat hind paw edema. **Phytother. Res.**, in press.

NAKAMURA, Y.; HAMMARSTROM, L.; MATSUMOTO, K.; LYNGSTADAAS, S. P. The induction of reparative dentine by enamel proteins. **Int. Endod. J.**, v. 35, n. 5, p. 407-417, 2002.

NAKAMURA, Y.; SLABY, I.; MATSUMOTO, K.; RITCHIE, H.H.; LYNGSTADAAS, S. P. Immunohistochemical characterization of rapid dentin formation induced by enamel matrix derivative. **Calcif. Tissue Int.**, v. 75, n. 3, p. 243-252, 2004.

NAKAMURA, Y.; SLABY, I.; SPAHR, A.; PEZESHKI, G.; MATSUMOTO, K.; LYNGSTADAAS, S. P. Ameloblastin fusion protein enhances pulpal healing and dentin formation in porcine teeth. **Calcif. Tissue Int.**, v. 78, n. 5, p. 278-284, 2006.

OLIVEIRA, D. A. **Análise histológica e morfométrica da reação provocada pelas pastas à base de hidróxido de cálcio, de própolis e associação em tecido subcutâneo de ratos.** Ribeirão Preto, 2004, 176p. Dissertação de mestrado - Faculdade de Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP.

OLSSON, H.; PETERSSON, K.; ROHLIN, M; Formation of a hard tissue barrier after pulp cappings in humans. A systematic review. **Int. Endod. J.**, v.39, n. 6, p.429-442, 2006.

ONCAG, O.; COGULU, D.; UZEL, A.; SORKUN, K. Efficacy of própolis as na intracanal medicament against enterococcus faecalis. **Gen. Dent.**, v.54, n. 5, p. 319-322, 2006.

OZKUL, Y.; EROGLU, H. E.; OK, E. Genotoxic potential of Turkish propolis in peripheral blood lymphocytes. **Pharmazie**, v. 61, n. 7, p. 638-640, 2006.

PERILLO, M. F. L. F.; LIMA, J. E. O.; COSTA, C. A. S. Análise histopatológica de polpas de pré-molares humanos submetidos à pulpotomia e capeados com hidroxiapatita, hidroxiapatita + glicina e hidróxido de cálcio. **Rev. Fac. Odontol. Bauru**, v. 6, n.1, p.41-46, 1998.

RANLY, D. M.; GARCIA-GODOY, F. Current and potential pulp therapies for primary and youngpermanent teeth. **J. Dent.**, v. 28, n. 3, p. 153-161, 2000.

RODRIGUES SOSA, S. A. **Reação histopatológica do tecido conjuntivo do dorso de ratos irradiados com laser de CO2 ou de Er:YAG.** Araraquara, 2004, 98p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Odontologia da Universidade Júlio de Mesquita Filho – UNESP.

RIEDER, N.; KOMERICKI, P.; HAUSEN, B. M.; FRITSCH, P.; ABERER, W. The seamy side of natural medicine: contact sensitisation to arnica (*Arnica montana* L.) and marigold (*Calendula officinalis* L.). **Contact. Dermatitis**, v. 45, n. 5, p. 269-272 2001.

SABIR, A.; TABBU, C. R.; AGUSTIONO, P.; SOSROSENO, W. Histological analysis of rat dental pulp tissue capped with propolis. **J. Oral Sci.**, v. 47, n. 3, p. 135-138, 2005.

SAFAVI, K. E.; NICHOLS, F. C. Alteration of biological properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. **J. Endod.**, v. 20, n. 3, p. 127-129, 1994.

SALATINO, A.; TEIXEIRA, E. W.; NEGRI, G.; MESSAGE D. Origin and chemical variation of Brazilian própolis. **Evid. Based Complement Alternat. Med.**, v. 2, n. 1, p. 33-38, 2005.

SAMET, N.; LAURENT, C.; SUSARLA, S. M.; SAMET-RUBINSTEEN, N. The effect of bee propolis on recurrent aphthous stomatitis: a pilot study. **Clin. Oral Investig.**, in press.

SANTOS-PEREIRA, A.; SEIXAS, F. R. M. S., NETO, F. R. A. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Quim. Nova**, v. 25, n. 2, p. 321-326, 2002.

SCHRÖDER, U. Effects of calcium hydroxide-containing pulp-capping agents on pulp cell migration, proliferation, and differentiation. **J. Dent. Res.**, v. 64, n. especial , p. 541-548, 1985.

SILICI, S.; KOÇ, N. A.; AYANGIL, D.; ÇANKAYA, S. Antifungal activities of propolis collected by different races of honeybees against yeasts isolated from patients with superficial mycoses. **J. Pharmacol. Sci.**, v. 99, n. 1, p. 39-44, 2005.

SILVA, F. B.; ALMEIDA, J. M.; SOUSA, S. M. G. Natural medicaments in endodontics – a comparative study of the anti-inflammatory action. **Braz. Oral Res.**, v. 18, n. 2, p. 174-179, 2004.

SISSON, S.; GROSSMAN, J. D. **Anatomia dos animais domésticos**. 5ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1986, v. 2, p.1502–1550.

STOCKTON, W. L. Vital pulp capping: a worthwhile procedure. **J. Can. Dent. Assoc.**, v. 65, n. 6, p. 328-331, 1999.

TAN-NO, K.; NAKAJIMA, T.; SHOJI, T.; NAKAGAWASAI, O.; NIIJIMA, F.; ISHIKAWA, M.; ENDO, Y.; SATOH, S.; TADANO, T. Anti-inflammatory effect of propolis through inhibition of nitric oxide production on carrageenin-induced mouse paw edema. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 29, n. 1, p. 96-99, 2006.

TUNÇ, E. S.; SAROGLU, I.; SARI, S.; GÜNHAN, Ö. The effect of sodium hypochlorite application on the success of calcium hydroxide pulpotomy in primary teeth. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 102, n. 2, p. 22-26, 2006.

WAKABAYASHI, H.; HORIWAKA, M.; FUNATO, A.; MATSUMOTO, K. Bio-microscopical observation of dystrophic calcification induced by calcium hydroxide.

Endod. Dent. Traumatol., v.9, n. 4, p. 165-170, 1993.

WANG, S.; LIU, Y.; FANG, D.; SHI, S. The miniature pig: a useful large animal model for dental and orofacial research. **Oral Dis.**, in press.

WILKERSON, M. K.; HILL, S. D.; ARCORIA, C. J. Effects of the argon laser on primary tooth pulpotomies in swine. **J. Clin. Laser Med. Surg.**, v. 14, n. 1, p. 37-42, 1996.

WÖEHL, S.; HEMMER, W.; FOCKE, M.; GOETZ, M.; JARISCH, R. The significance of fragrance mix, balsam of Peru, colophony and propolis as screening tools in the detection of fragrance allergy. **Br. J. Dermatol.**, v. 145, n. 2, p. 268-273, 2001.



Anexo



Ribeirão Preto, 20 de Junho de 2005.


Prezado Senhor,

Vimos por meio desta informar que Comitê de Ética em Pesquisa da UNAERP - Universidade de Ribeirão Preto analisou e aprovou sem restrições, o Projeto intitulado “**Análise histológica e morfométrica da evolução reacional do complexo dentino-pulpar de suínos frente à ação das pastas à base de hidróxido de cálcio, própolis e associação**”, tendo como pesquisador **Prof. Dr. Danyel Elias da Cruz Perez**, em reunião ocorrida na data de *20 de junho de 2006*, registrado sobre o **Comét: 047/06**.

Temos ciência de que os estudos estão sendo conduzidos na Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP.

Solicitamos que o senhor encaminhe os relatórios parciais e finais, bem como envie-nos possíveis emendas e novos termos de consentimento livre e esclarecido, notifique qualquer evento adverso sério ocorrido no centro e novas informações sobre a segurança do estudo para que possamos fazer o devido acompanhamento.

Atenciosamente,



Prof. Dr. Luciana Rezende Alves Oliveira
Coordenadora do Comitê em Pesquisa da UNAERP
Universidade de Ribeirão Preto