

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-graduação em Odontologia



Tese

**Avaliação histológica da polpa dental de suínos após capeamento
com Agregado Trióxido Mineral ou Hidróxido de Cálcio**

Antonio Cesar Bortowski Rosa Leites

Pelotas, 2006

ANTONIO CESAR BORTOWISKI ROSA LEITES

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DA POLPA DENTAL DE SUÍNOS APÓS
CAPEAMENTO COM AGREGADO TRIÓXIDO MINERAL OU HIDRÓXIDO DE
CÁLCIO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Odontologia, Área de concentração em Dentística

Orientador: Prof. Dr. Evandro Piva

Co-orientadoras: Prof^a Dra Sandra Beatriz Chaves Tarquíneo
Prof^a Dra Adriana Etges

Pelotas, 2006

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

L533a Leites, Antônio Cesar Bortowski Rosa

Avaliação histológica da polpa dental de suínos após capeamento com agregado trióxido mineral ou hidróxido de cálcio / por Antônio Cesar Bortowski Rosa Leites– 2006.

107 f.

Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia., Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, 2006. “Orientação: Prof. Dr. Evandro Piva.”

1. Dentística .2. Agregado trióxido mineral. 3. Capeamento pulpar direto. 4. Cimentos dentários. 5. Dentição decídua. 6. Hidróxido de cálcio. 7.Suíno. I.Título.

CDD: D2

Banca Examinadora:

Prof. Dr. EVANDRO PIVA

Prof. Dr. FLÁVIO FERNANDO DEMARCO

Prof^a. Dr^a. ELENA RIET CORREA RIVERO

Prof^a. Dr^a. MÁRCIA BUENO PINTO

Prof. Dr. MÁRCIO NUNES CORRÊA

DEDICATÓRIA

A **DEUS** , por estar vivo, ter saúde, força e vontade para vencer os obstáculos.

Ao meu pai **Júlio** (*in memoriam*), minha mãe **Clitia** (*in memoriam*) e minha irmã **Célia Maria** (*in memoriam*), sempre vivos em meus pensamentos.

Aos meus filhos **Bruno** e **Nina**, pelo fato de conviverem muitas vezes com a minha ausência, sempre demonstrando carinho e compreensão

Ao meu sobrinho **Lucas**, meu parceiro e companheiro em etapas importantes deste trabalho.

E a minha querida **Rossana** que com amor me incentivou, me ajudou e sempre esteve ao meu lado apoiando-me nos momentos difíceis.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu agora professor e orientador Prof. Dr. **Evandro Piva**, inicialmente aluno de Graduação, colega de Mestrado e em todas as etapas: “**amigo**”. Obrigado pela forma eficiente e tranqüila na condução deste trabalho. Você que numa fase importante e cheia de novidades em sua vida pessoal e profissional, acreditou, se doou e venceu comigo as barreiras deste projeto

AGRADECIMENTOS

À minha co-orientadora Prof^a. Dr^a. **Sandra Beatriz Chaves Tarquíneo** pelo profissionalismo, orientação, forma ativa e garra que dedicou ao projeto e pela amizade e respeito desenvolvida no transcorrer do mesmo. Obrigado professora pela paciência com que soube conduzir as orientações até então inéditas para mim e desculpe pelos transtornos.

À Prof^a. Dr^a. **Adriana Etges** que sempre que necessário participou na co-orientação do estudo.

À “**Rossana**” que com amor ajudou-me a redigir esta tese e ao **Lucas**, sobrinho que sempre esteve comigo nos procedimentos operatórios no Hospital e também nas etapas de extrações

À Doutoranda em Histologia Bucal **Adriana Fernandes da Silva**, sempre solícita e que disponibilizou seu tempo e seus conhecimentos na Área da Histologia.

À **Silvana Pereira de Souza**, técnica de laboratório do Centro de Diagnóstico das Doenças da Boca, indispensável na realização de toda técnica histológica do estudo.

Ao Médico Veterinário **Thomas Normanton Guim** e sua equipe, anestesista dos modelos biológicos que com eficiência possibilitou a realização de todos os procedimentos operatórios, além da ajuda com seus conhecimentos profissionais e ainda por ser um grande amigo.

Aos colegas professores de Anatomia, **Ademar Fonseca** e **Renato Azevedo** que me substituíram de maneira amigável em minhas obrigações na Disciplina. Em especial ao professor **Ademar Fonseca**, Cirurgião Buco-Maxilo-Facial, indispensável na realização das extrações dos dentes.

A todos **Colegas do Curso de Pós-Graduação**, pela amizade e coleguismo.

Aos **Professores do Curso de Pós-Graduação** que gentilmente cederam seu tempo para aprimorar nossos conhecimentos.

Ao professor do Curso de Medicina Veterinária **Luiz Paiva Carapeto** que com a sua experiência contribuiu na condução deste trabalho.

Ao Chefe do Biotério Central da UFPEL Sr. **Milton Amado** que junto com sua equipe, especialmente o Sr. **Irlei**, nos guiou e indicou as melhores opções relacionadas aos modelos experimentais.

À **Paulinha**, amiga e cunhada, especialista em Odontopediatria que muito me orientou com seus conhecimentos na especialidade.

Ao Doutorando em Biotecnologia Agrícola **Ivan Bianchi** que se tornou meu “tutor em assuntos suínos”.

Ao Prof. Dr. **Gilberto Colares**, diretor de produção do CAVG, pela disponibilidade dos suínos e pelas orientações que nos passou sempre de forma simpática assim como ao Sr. **Erli Hartmann**, chefe da unidade de Zootecnia que conduziu a manutenção dos animais naquela unidade.

Ao Prof. **José Carlos Padilha Pinto**, Diretor do Hospital de Clínicas Veterinária da UFPEL, que nos abriu as portas do mesmo para realizarmos os procedimentos operatórios sempre de forma solícita.

Ao Prof. Dr. **Flávio Fernando Demarco** que sempre me incentivou e apoiou em relação a produção científica.

Ao responsável pelo Centro Agropecuário da Palma, Sr. **Alexandre César Lopes** que nos disponibilizou parte dos suínos usados nos estudo e em especial ao funcionário **Vilson Borba Pinto** que se encarregou dos suínos neste local e que muito ajudou-nos nesta etapa da pesquisa.

A todos os **Modelos Animais Experimentais** usados em pesquisas, que foram e são essenciais no desenvolvimento da Ciência.

E a todos **Funcionários e Professores** da Faculdade de Odontologia e da UFPEL que de alguma forma ajudaram na realização deste trabalho.

RESUMO

LEITES, Antonio Cesar Bortowski Rosa. **Avaliação histológica da polpa dental de suínos após capeamento com Agregado Trióxido Mineral ou Hidróxido de Cálcio.** 2006. 105f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O presente trabalho teve como objetivos avaliar o uso de suínos da espécie *Sus scrofa domestica* para experimentos em polpa dental e analisar a resposta histológica pulpar mediante a aplicação direta de agregado trióxido mineral (MTA Angelus®) e cimento contendo Hidróxido de Cálcio (Dycal®). Cavidades classes V foram preparadas em dentes incisivos e pré-molares decíduos inferiores de suínos oriundos do cruzamento de raças Landrace e Large White com idade aproximada de 105 dias (± 10 dias). Exposições pulpares foram obtidas e após hemostasia com soro fisiológico, foi realizado capeamento pulpar com a aplicação direta de MTA ou Dycal. Os animais foram abatidos após o período de 7 ou 70 dias de acordo com a ISO 7405:1997. Quatro grupos foram criados a partir da combinação de tempos e materiais (HC_7d, HC_70d, MTA_7d e MTA_70d). Os dentes foram extraídos e processados pela técnica histológica de HE, com cortes aleatorizados sendo examinados ao microscópio óptico em 100x de aumento por dois examinadores. Os critérios avaliados foram: resposta inflamatória, organização tecidual, dentina reacional e reparativa, classificados de acordo com os critérios da ISO 7405:1997. Foi utilizado o teste estatístico de Mann-Whitney para realizar as comparações entre dois grupos ($\alpha=5\%$). O MTA demonstrou uma tendência em acelerar o processo de regeneração pulpar, iniciando a deposição de dentina reparativa ainda nas primeiras fases do reparo. Ambos materiais apresentaram características de reparo pulpar similar após 70 dias. Apesar de maiores níveis significantes de inflamação inicial, especialmente associado ao Hidróxido de Cálcio ($p < 0,05$), houve uma marcante formação de dentina terciária ao final de 70 dias, demonstrando a capacidade da polpa dental de suínos em responder aos estímulos provocados pelos materiais utilizados. O tipo de animal empregado parece fornecer um modelo economicamente viável para estudos de resposta pulpar.

Palavras-chave: agregado trióxido mineral, capeamento pulpar direto, cimentos dentários, dentição decídua, hidróxido de cálcio, suíno.

ABSTRACT

LEITES, Antonio Cesar Bortowski Rosa. **Histological evaluation of swine dental pulp after their capping either with Mineral Trioxide Aggregate or Calcium Hydroxide.** 2006. 107p. Thesis (PhD) – Program of Post-Graduation in Dentistry. Federal University of Pelotas, Pelotas, Brazil.

The main objectives of this study were to evaluate the use of the *Sus scrofa domestica* swine in dental pulp experiments and analyze the histological pulp reaction to the direct application of mineral trioxide aggregate (MTA Angelus) and cement containing calcium hydroxide (Dycal). Class V cavities were prepared on incisors and pre-molar deciduous teeth of swine originated from crossbreed between Landrace and Large White of about 105 (± 10 days) days old. Pulp exposures were obtained and after their homeostasis with saline, pulp capping was done with direct application of either MTA or Dycal. The animals were slaughtered after a period ranging within 7 and 70 days according to ISO 7405:1997. Four groups were created combining times and materials (HC_7d, HC_70d, MTA_7d and MTA_70d). The teeth were extracted and processed by HE histological technique; randomized cuts were examined under optical microscope with 100X enlargement by two different examiners. The criteria evaluated were: inflammatory response, tissue organization, reactive and reparative dentin being them all classified according to ISO 7405:1997 criteria. The Mann-Whitney Statistical test was used to compare both groups ($\alpha=5\%$). The MTA showed a tendency to accelerate the pulp healing process, being reparative dentin apposition initiated in the early stages of the healing process. Both materials showed similar pulp healing characteristics after 70 days. Despite higher levels of initial inflammation, specially related to Calcium Hydroxide ($p<0.05$), there was a remarkable formation of tertiary dentin after the period of 70 days, which shows the ability of swine dental pulp to respond to stimuli provoked by the materials used. The kind of animal used may give us an economically feasible model for further pulp response studies.

Key words: mineral trioxide aggregate; direct pulp capping; dental cement; deciduous teeth; calcium hydroxide; swine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Preparo cavitário em dente incisivo.....	48
Figura 2	Isolamento em dente incisivo.....	48
Figura 3	1° e 2° incisivos de suíno abatido aos 4 meses de idade	50
Figura 4	2° e 3° pré-molares de suíno abatido aos 4 meses de idade	50
Figura 5	2° incisivo de suíno abatido aos 6 meses de idade	50
Figura 6	2° e 3° pré-molares de suíno abatido aos 6 meses de idade.....	50
Figura 7	Agregado Trióxido Mineral (MTA Angelus®).....	51
Figura 8	Cimento contendo HC (Dycal®).....	51
Figura 9	Material restaurador utilizado. Cimento de Ionômero de Vidro Modificado por Resina (Vitrem ^{MR} 3M ESPE).....	51
Figura 10	Extração em bloco do 1° incisivo inferior	55
Figura 11	Controle Positivo demonstrando a presença de bactérias em dentina contaminada (BH, 1000x).....	57
Figura 12	(A-H) - HC - 7 dias de pós-operatório. Em (A) - Polpa coronária capeada com HC, demonstrando a área da exposição, que exibe infiltração inflamatória polimorfonuclear focal e superficialmente situada (seta), vizinha a um foco de barreira dentinária em fase inicial de formação (cabeça de seta). Hiperemia é também notável. (HE, 40X). Em (B) - Melhor visualização dos aspectos apontados em 11A. (HE, 100X). Em (C) - Em evidência, detalhes da barreira dentinária, demonstrada nas figuras anteriores, com fibrodentina apresentando alinhamento de células odontoblastóides (seta) e área de inflamação aguda superficial, presente no sítio da exposição. (HE, 200X). Em (D) - Mesmo espécimen do caso das figuras anteriores, mostrando a polpa radicular. Observe a ausência de infiltração inflamatória nesta localização. (HE, 40X). Em (E) - Espécimen capeado com HC,	

sendo observados fragmentos de dentina (setas) em meio ao tecido pulpar coronário (corte no sentido vestibulo-lingual). É também visualizada dentina reacional contínua a outro foco de matriz dentinária (cabeça de seta). (HE, 40X). Em (F) - Mesmo espécimen anterior, em secção da coroa no sentido incisocervical, mostrando área de infiltração inflamatória polimorfonuclear no sítio da exposição (seta). (HE, 40X). Em (G) - Em destaque, área de indução da formação de matriz dentinária em calcificação, sendo notado o alinhamento de algumas células odontoblastóides ao seu redor (setas). (HE, 200X). Em (H) - Espécimen com capeamento pulpar direto feito com HC, apresentando área de necrose superficial e intensa infiltração inflamatória polimorfonuclear presente na polpa coronária - sítio da exposição. (HE, 100X).....

64

Figura 13 (A–H) - MTA - 7 dias de pós-operatório. Em (A) - Polpa coronária capeada com MTA, demonstrando ausência de infiltrado inflamatório e barreira dentinária em estágio inicial de formação, a qual é subjacente à estreita faixa superficial de necrose, no sítio da exposição pulpar. Vasodilatação e hiperemia são achados também notáveis. (HE, 40X). Em (B) - Maior aumento da área focal de dentina reparativa (*), contínua à dentina reacional (R). (HE, 200X). Em (C) - Mesmo espécimen de 12 A e 12B de 12A e 12B, visto em secção da coroa no sentido incisocervical. (HE, 40X). Em (D) - Capeamento pulpar direto feito com MTA. Observa-se polpa coronária íntegra, sem nenhum sinal de inflamação ou necrose superficial na área da exposição. Perda tecidual é mínima. (HE, 40X). Em (E) - Espécimen capeado com MTA, sendo observada vasodilatação e infiltração inflamatória polimorfonuclear na polpa coronária, com perda parcial do tecido pulpar neste sítio. (HE, 40X). Em (F) - Maior aumento de 12E, com destaque para o infiltrado inflamatório da polpa coronária, nas proximidades da área da exposição pulpar. (HE, 200X). Em (G) - Polpa coronária de dente suíno capeado com MTA (M), apresentando hemorragia, vasodilatação e, em área focal, deposição inicial de dentina reparativa (seta). (HE, 40X). Em (H) - Ampliação de 12G, na área da barreira dentinária, ressaltando o alinhamento das células odontoblastóides sob a mesma (seta), e a sua continuidade com a dentina reacional (R) também presente. (HE, 200X).....

66

Figura 14 (A–D) - HC - 70 dias de pós-operatório. Em (A) - Dente suíno capeado com HC, demonstrando dentina reparativa obliterando quase totalmente a polpa coronária (corte no sentido vestibulo-

lingual), sendo também observado tecido pulpar remanescente. (HE, 40X). Em (B) - Maior aumento de 13A, com destaque para a dentina reparativa. (HE, 100X). Em (C) - Capeamento pulpar feito com HC, exibindo obliteração total da polpa coronária (secção vestibulo-lingual) por dentina reparativa. (HE, 40X). Em (D) - Dentina reparativa em destaque, sendo observadas áreas de osteodentina (*) e dentina tubular (seta). (HE, 200X). (E-H) - MTA - 70 dias de pós-operatório. Em (E) - Polpa coronária de dente suíno capeado com MTA, notando-se marcante deposição de dentina reparativa, a qual preenche grande parte de sua extensão no sentido vestibulo-lingual. O tecido pulpar remanescente exhibe vasodilatação e congestão vascular. (HE, 40X). Em (F) - Maior aumento de 13E. (HE, 100X). Em (G) - Observa-se polpa coronária capeada com MTA, apresentando deposição de dentina reparativa na área da exposição pulpar (*). Foco hemorrágico e vasocongestão são também notáveis. (HE, 40X). Em (H) - Maior aumento de área de interface da barreira dentinária com o tecido pulpar, com destaque para o alinhamento de células odontoblastóides (setas). Observa-se também a vasocongestão evidenciada na polpa coronária. (HE, 200X).....

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Cronologia de erupção dos dentes de suínos	37
Quadro 2	Informações sobre os materiais utilizados	52
Quadro 3	Formação dos grupos Dycal e MTA	53
Quadro 4	Descrição dos escores avaliados	58

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ADA – American Dental Association

BMP- Bone morphonetic proteins

CAVG – Conjunto Agrotécnico Visconde da Graça

COBEA – Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

CO₂ – Dióxido de Carbono

DDM – Demineralized dentin matrix

DHL – Lactato desidrogenase

EMD – Enamel matrix derivative

EUA – Estados Unidos da América

hal – Halotano

HC – Hidróxido de Cálcio

HCV – Hospital de Clínicas Veterinária

HE – hematoxilina-eosina

HEMA – Hidroxietil metacrilato

hOP-1 – Recombinant human osteogenic protein - 1

ISO – International Organization for Standardization

Lilacs – Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde

Medline – National Library of Medicine-USA

MO – Microscopia óptica

MPA – Medicação pré-anestésica

Mpa – Megapascal

MTA – Agregado trióxido mineral

mW/cm² – miliWats por centímetro quadrado

O₂ – Oxigênio

PSS – Porcine Stress Syndrome

pH – Potencial hidrogeniônico

® – Símbolo indicativo de marca registrada

SciELO – Scientific Eletronic Library Online

UFPel - Universidade Federal de Pelotas

µm – Micrometro

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE QUADROS.....	13
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	14
1 Introdução	18
2 Revisão de literatura.....	21
2.1 Hidróxido de Cálcio	21
2.2 Agregado Trióxido Mineral	26
2.3 Experimentação animal	31
2.4 Modelo suíno	35
3 Justificativa	43
4 Objetivos	44
5 Materiais e métodos	45
5.1 Protocolo anestésico.....	45
5.2 Preparo cavitário e exposição pulpar.....	47
5.3 Hemostasia pulpar.....	49

5.4 Amostras e periodicidade dos estudos.....	49
5.5 Protocolo de aplicação dos materiais.....	53
5.6 Abate dos animais e preparo dos espécimes.....	54
5.7 Processamento dos dentes.....	56
5.8 Análise dos resultados	57
5.9 Análise estatística.....	59
 6 Resultados.....	 60
6.1 Análise morfológica descritiva	60
6.1.1 Análise morfológica descritiva aos 7 dias	60
6.1.2 Análise morfológica descritiva aos 70 dias	62
6.2 Análise da contaminação através da técnica histoquímica de Brown e Hopps.....	69
6.3 Resultados da análise estatística	69
 7 Discussão.....	 70
 8 Conclusões.....	 83
 REFERÊNCIAS.....	 84
 APÊNDICE.....	 97
 ANEXOS.....	 99

1 INTRODUÇÃO

O tecido pulpar, durante toda a vida do dente, contribui para a produção de dentina secundária e terciária, em resposta a estímulos fisiológicos e patológicos. Sendo assim, torna-se importante, sempre que possível, a manutenção da vitalidade pulpar, pois dessa forma se tem a preservação da atividade funcional da polpa, o que será importante para todo o órgão dental (STANLEY, 1989).

Mesmo após o surgimento de novas terapias na preservação da polpa vital (como utilização de células-tronco, terapia genética e engenharia tecidual), a terapia pulpar tradicional, que inclui capeamento pulpar (indireto e direto) e a pulpotomia (TZIAFAS; SMITH; LESOT, 2000; MURRAY et al., 2002), ainda continua sendo o tratamento mais usado para esta finalidade.

O capeamento pulpar direto em dentes decíduos, assim como em permanentes tem sido indicado para exposições traumáticas ou mecânicas acidentais, (STANLEY; GOING; CHAUNCEY, 1975; RANLY; GARCIA-GODOY, 2000; MASSARA, 2002; PIVA et al., 2004). O capeamento pulpar direto pode ser instituído frente a pequenas exposições, a indicação deste tratamento está vinculada a capacidade de resposta do tecido pulpar. Entretanto, para um bom prognóstico do tratamento a observação de vários fatores clínicos é citada como importante para a indicação dessa terapia. Entre os fatores favoráveis podem ser citados a ausência de hemorragia ou o controle da mesma dentro de alguns minutos. Também deve ser considerada a ausência de pulpite dolorosa prévia, que poderá comprometer o tratamento (MJÖR, 2002), bem como a grande tendência de insucesso quando a inflamação é provocada nos casos em que a cárie atingiu a polpa (MJÖR, 2002).

A biocompatibilidade do material utilizado como capeador é outro fator considerado fundamental para o sucesso do capeamento pulpar direto. Atualmente o Hidróxido de Cálcio (HC) ainda pode ser considerado o padrão-ouro nessa terapia (STANLEY, 1989,1998). Entretanto, o sucesso clínico não é atingido em todas as situações. Haskell et al. (1978) em capeamentos realizados em exposições decorrentes

de remoção de cárie obtiveram uma taxa de sucesso de 87,3% após 5 anos de acompanhamento, enquanto Barthel et al. (2000) obtiveram resultados bem menos favoráveis, com 37% dos casos de sucesso com o mesmo tempo de acompanhamento, sendo reduzido para 13% após 10 anos.

O insucesso no capeamento pulpar provocado pela utilização do HC se refere aos efeitos produzidos principalmente pela solubilidade desse material (PEREIRA et al. 1990), presença de barreiras dentinárias defeituosas (COX et al., 1996; SCHURRS; GRUYTHUYSEN; WESSELINK, 2000) e o alto pH do material (YOSHIBA; YOSHIBA; IWAKU, 1994) que leva ao comprometimento de uma maior extensão do tecido durante o processo de reparo. Essas limitações têm motivado a comunidade científica a investigar novas propostas aos materiais derivados do HC, como o desenvolvimento de materiais que apresentassem maior potencial de explorar as respostas biológicas da polpa, com menor solubilidade e melhores propriedades mecânicas, de forma a trazer prognósticos mais favoráveis e previsíveis para as terapias da polpa exposta.

O agregado trióxido mineral (MTA) que foi usado inicialmente no reparo de perfurações radiculares, por Lee, Monsef e Torabinejad (1993) começou desde então a ser pesquisado e indicado não só no selamento de perfurações bem como em outras finalidades, entre elas o tratamento conservador da polpa (TORABINEJAD; CHIVIAN, 1999; BERNABÉ; HOLLAND, 2003).

O mecanismo de ação sobre a polpa do MTA é similar ao HC (HOLLAND et al., 2002), entretanto é questionada a substituição do HC por esse material, com base nas evidências do sucesso clínico, radiográfico e histopatológico do HC que vem sendo alcançado por mais de 80 anos, além do menor custo (QUEIROZ et al., 2005).

As questões éticas impossibilitam, muitas vezes, o desenvolvimento de pesquisas em seres humanos e algumas espécies animais determinando a necessidade de alternativas de modelos experimentais. Isso é de suma importância nas pesquisas científicas, sendo extremamente relevante para o desenvolvimento da ciência e tecnologia.

Na Odontologia, os testes em animais também são usados, especialmente para avaliar a biocompatibilidade de materiais dentários. Dentre as principais

vantagens da experimentação animal destaca-se a possibilidade da realização dos testes sob condições clínicas similares a dos humanos (BROWNE, 1994).

O suíno tem sido usado como modelo experimental em diversas especialidades: embriologia, teratologia, toxicologia, imunologia, nutrição, diabetes, entre outras (BOOK; BUSTAD, 1974; ALMOND, 1996).

Sua grande similaridade com o homem na anatomia, fisiologia de seus órgãos, incluindo características dentais, é salientada (POUND; HOUPPT, 1978), mas o crescimento rápido aliado ao grande apetite das raças industriais são fatores complicadores para o uso deste animal (MARIANO, 2003).

Porém a alternativa do uso de suínos domésticos de raças industriais (*Sus scrofa domesticus*), em estudos que envolvam resposta pulpar é justificada não só por sua já conhecida filogenicidade semelhante a do humano, como também por ser animal de criação destinada ao abate, de baixo custo, geralmente disponível em criatórios e biotérios de universidades.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Hidróxido de Cálcio

A manutenção da vitalidade pulpar é extremamente relevante, uma vez que sua ausência leva a diminuição de propriedades físicas, químicas e biológicas importantes ao elemento dentário e tecidos circunvizinhos.

A exposição pulpar ao meio externo, não é rara de acontecer, decorrente de remoção de tecido cariado em cavidades com pouca espessura de dentina remanescente sobre a polpa ou traumas com exposição pulpar. Nessas situações torna-se necessário um adequado diagnóstico e planejamento do plano de tratamento.

Bons resultados com o tratamento conservador da polpa coincidem com a introdução, por Hermmam em 1920, do HC na Odontologia (STANLEY, 1989). Mesmo assim, a idéia de que polpa exposta era um órgão comprometido ainda permaneceu por muito tempo. Uma importante contribuição foi dada pelos trabalhos de Kakehashi, Stanley e Fitzgerald (1965) e Tsuji et al. (1985) demonstrando o reparo pulpar e a formação de barreira dentinária em polpas expostas de ratos *germ-free* na ausência de material capeador.

Várias evidências científicas, ao longo dos anos, consolidaram o tratamento conservador pulpar, demonstrando reparo e formação de barreira dentinária quando usado HC sobre a polpa exposta.

Stanley e Lund (1972) avaliaram dentes com polpas mecanicamente expostas e capeadas com Dycal. Os dentes estavam intactos, levemente cariados ou exibiam alguma atrição. Extrações foram realizadas em período que variou de 1 a 330 dias e foram avaliados por microscopia. Os autores relataram formação de barreira de dentina após o tecido mumificado ter sido substituído por tecido de granulação, o qual diferenciava novos odontoblastos.

Çaliskan (1995) examinou vinte e seis molares permanentes vitais humanos com exposição pulpar por cárie e envolvimento periapical, pulpotomizados e capeados

com pasta de HC. Os critérios usados para avaliação foram clínicos e radiográficos. A observação foi por um período de 16 a 72 meses. O sucesso foi alcançado em 24 dentes, com retorno de trabeculado ósseo normal, saúde periodontal e formação de barreira de dentina.

A biocompatibilidade de dois sistemas adesivos, Clearfil Liner Bond 2 e Scotchbond Multi-Purpose foi avaliada em estudo *in vivo*, realizado em terceiros molares humanos e *in vitro*, em cultura de células. Os resultados histológicos após 90 dias mostraram discreta resposta inflamatória e formação de barreira de dentina em 50% de dentes tratados com Liner Bond 2, os dentes com polpas capeadas com Scotchbond Multi-Purpose apresentaram resposta inflamatória leve à severa e nenhum tecido mineralizado formado foi detectado, já o grupo controle, que usou como materiais capeadores, pó + cimento de HC (Hidro C), apresentou formação de barreira em todos os dentes, com ausência de infiltrado inflamatório. Na cultura de células, a citotoxicidade foi similar entre os dois adesivos e ambos tiveram efeitos citotóxicos estaticamente maiores que o HC (DEMARCO et al., 2001).

A resposta pulpar de dentes de cães com polpas mecanicamente expostas foi avaliada em recente estudo (KOLINIOTOU-KOUMPIA; TZIAFAS, 2005) em que foram usados como capeadores diretos quatro adesivos: Clearfill® SE Bond, Prompt® L-Pop®, Etch & Prime® 3.0 e Single Bond. Um quinto grupo capeado com Dycal serviu como controle. Foram realizadas cavidades classe V na vestibular de dentes molares, pré-molares, caninos e terceiros incisivos. A análise da resposta pulpar foi feita nos períodos pós-operatórios de 7, 21 e 65 dias. A aplicação dos quatro sistemas adesivos produziu uma resposta inflamatória de moderada a severa na maioria dos dentes em todos os períodos. Foi verificada uma progressiva extensão de tecido necrótico com o passar do tempo e uma total ausência de barreira dentinária nos períodos mais longos. Com o Dycal houve também infiltrado celular inflamatório, limitada necrose tecidual, entretanto foi observada completa formação de barreira dentinária nos períodos mais longos (KOLINIOTOU-KOUMPIA; TZIAFAS, 2005).

A resposta pulpar perante o adesivo Prime & Bond 2.1 foi avaliada histologicamente e a pasta associada ao cimento de HC foi usado como controle.

Foram capeadas polpas expostas de dentes de carneiro e dentes humanos. O adesivo aos 7 dias provocou inflamação severa tanto em dentes de carneiro como de humanos, já com o HC a inflamação foi leve nos dentes das duas espécies animais. Aos 90 dias todas as amostras de polpas de carneiro capeadas com adesivo tiveram formação de barreira dentinária enquanto nos dentes de humanos persistia inflamação sem haver formação de barreira. Neste mesmo período os dentes capeados com HC, tanto em carneiros como em humanos mostraram reparo pulpar com barreira formada (ERSIN; ERONAT, 2005).

A biocompatibilidade do MTA foi avaliada após proteção pulpar direta em dentes de cães adultos, onde pasta de HC foi aplicada sobre a polpa exposta seguida de aplicação de cimento de HC no grupo controle (QUEIROZ et al. 2005). Após 90 dias os animais foram abatidos e os dentes extraídos e avaliados histologicamente. A resposta do tecido pulpar e periapical foi semelhante a do HC, com formação de barreira dentinária, camada odontoblástica íntegra e ausência de células inflamatórias, bem como ausência de alterações periapicais e ósseas. Sendo assim foi concluído que da mesma forma que o HC, o MTA apresentou excelente biocompatibilidade, sendo ambos indicados como capeadores diretos da polpa. Porém os autores ressaltaram que os resultados do MTA são de pesquisas realizadas em curto período de tempo, que o HC apresenta menor custo, é facilmente encontrado e ainda que seu sucesso clínico, radiográfico e histopatológico vem sendo alcançado por mais de 80 anos (QUEIROZ et al. 2005).

Os resultados clínicos e histológicos favoráveis quando do uso de HC como capeador pulpar faz com que este seja considerado o material padrão em capeamento pulpar (STANLEY, 1998). Stanley (1998) ainda relatou que a confusão existente na literatura sobre o uso da terapia de capeamento pulpar direto nos tratamentos pulpares, se deve em grande parte a falta de critérios histológicos uniformes para avaliação do sucesso e fracasso dos procedimentos desta forma de tratamento. Também devem ser considerados o tipo de resposta inflamatória, impactação de partículas do agente capeador, controle da hemorragia, tamanho da exposição pulpar e qualidade da barreira de dentina.

Também na dentição decídua o HC pode ser usado como alternativa no tratamento conservador de polpas expostas, ao invés de terapia com formocresol, material que visa a desvitalização da polpa dental e que embora apresente maior número de sucessos do que insucessos é bastante questionado. Berger (1972) relatou que a aplicação, por cinco minutos, do formocresol deixou a polpa “meio morta e meio viva” além de cronicamente inflamada.

Ranly (1994) afirmou que a terapia de pulpotomia em dentes decíduos pode ser dividida em três categorias: a) desvitalização: quando completamente fixada, a polpa radicular estaria teoricamente esterilizada e desvitalizada, em consequência disto obviamente infectada e reabsorvida internamente, representada pelo formocresol e eletrocautério; b) preservação: a vitalidade pulpar preservada ao máximo, sem indução de formação de barreira, como representantes desta categoria podem ser citados cimento de óxido de zinco e eugenol, glutaraldeído e sulfato férrico; c) regeneração: tratamento com materiais como HC e as BMPs, que dariam condições à polpa de manter-se viva e saudável e ainda isolada da câmara pulpar pulpar pela formação de barreira dentinária. Cabe ressaltar que o MTA poderia ser incluído nesta última categoria, não o foi provavelmente em função do recente surgimento na época da publicação do artigo.

Sari, Aras e Gunhan (1999), afirmaram estudando os efeitos da reabsorção fisiológica no potencial de reparo de polpa de caninos decíduos capeados com pasta de HC, que o mesmo após três meses promoveu barreira de dentina em todas as amostras e que não houve reabsorção interna em nenhum dente, dizendo que inflamação prévia sim pode ser a causadora deste evento e ainda afirmam que o capeamento pulpar direto pode ser usado com sucesso em dentes decíduos.

Ranly e Garcia-Godoy (2000), em revisão feita sobre terapias pulpares em decíduos e dentes jovens permanentes indicaram o uso de capeamento pulpar direto com HC em situações de exposições mecânicas da polpa, sugerindo o uso do cimento ao invés do pó, e em exposições por cárie, debridamento mais extensivo e completa hemostasia como protocolo a ser seguido para o uso de HC. Alguns resultados desfavoráveis, em estudos realizados em animais e humanos, em relação ao uso de

adesivo como capeador pulpar direto, fazem com que ele não seja indicado. Formocresol e HC ainda são os materiais mais usados em pulpotomia, apesar da toxicidade do primeiro e o estímulo à reabsorção interna do segundo, documentada na literatura. Alternativas aos materiais utilizados em pulpotomia como cimento de HC, ao invés do pó, sulfato férrico, glutaraldeído, eletrocautério, e as BMPs (Proteínas morfogenéticas ósseas) foram comentadas.

Massara (2002) relatou ser o HC o material de eleição para capeamento direto e pulpotomias, e explicou sua opção por medicamentos capazes de estimular o organismo no processo de cura e não por aqueles que o lesem. Relatou que novos materiais biocompatíveis, como proteínas morfogenéticas e o MTA têm mostrado resultados superiores aos do HC e que com mais estudos esses materiais poderão ser indicados para aplicação em humanos. A autora afirmou que a ocorrência de reabsorção interna em dentes decíduos se deve ao uso do HC diretamente sobre o tecido pulpar já inflamado, em virtude de erro no diagnóstico e falha na técnica cirúrgica.

Piva et al. (2004) realizaram levantamento, através de questionários, sobre conceitos, medicamentos e técnicas relacionadas ao capeamento indireto e direto usados nas disciplinas de Odontopediatria de 34 universidades brasileiras. Concluíram que o capeamento pulpar indireto em dentes decíduos foi preconizado em 85% das faculdades de Odontologia avaliadas. O material de escolha foi o HC em 68% das faculdades pesquisadas. Em relação ao capeamento pulpar direto, 55% das faculdades avaliadas preconizam a realização dessa técnica em dentes decíduos, seguindo os seguintes critérios: exposição pequena e acidental da polpa, ausência de tecido cariado, dentes jovens, ausência de contaminação por meio de uso de isolamento absoluto, volume e cor do sangramento. O material mais usado foi o HC (92.6%) seguido dos sistemas adesivos (3,7%) e da pasta Guedes-Pinto (3,7%) (PIVA et al., 2004). Os autores relataram que embora as diversas vantagens do HC, problemas referentes à solubilidade, consistência e baixa resistência mecânica, fizeram com que outros materiais sejam estudados como alternativas de capeadores diretos, tanto em decíduos como em permanentes, e citam como exemplos atuais, os sistemas adesivos,

as proteínas morfogenéticas, o MTA e tratamento com laser (PIVA et al., 2004).

Markovic; Zivojinovic; Vucetic (2005) examinaram o sucesso de três materiais usados em pulpotomia de 104 molares decíduos em humanos. Utilizaram o formocresol, o sulfato férrico e o cimento HC e afirmaram não haver diferença estatística entre os três materiais em relação ao sucesso clínico. Radiograficamente foi constatada a presença de barreira dentinária somente nos dentes capeados com HC ou sulfato férrico sem diferença estatística.

Alguns aspectos limitantes são evidenciados quando da utilização de materiais contendo HC, como o fato de ele produzir grande necrose tecidual devido ao seu alto pH, (YOSHIBA; YOSHIBA; IWAKU, 1994), sua solubilidade sob restaurações com infiltração marginal (PEREIRA et al. 1990), também o fato de não possuir qualquer adesão à estrutura dentária (CHAIN, M.; CHAIN, J.; COX, 1997), e muitas vezes apresentar barreira de dentina com defeitos em túnel, impedindo um efetivo selamento do tecido pulpar (COX et al. 1996; SCHURRS; GRUYTHUYSEN; WESSELINK, 2000). A busca por materiais alternativos que tenham um melhor desempenho em relação a esses quesitos é motivo de várias pesquisas.

2.2 Agregado Trióxido Mineral

Em 1993 o MTA (Cimento de Agregado Trióxido Mineral) foi desenvolvido na Universidade de Loma Linda, nos Estados Unidos da América.

Foi usado primeiramente por Lee, Monsef e Torabinejad (1993) no reparo de perfurações radiculares, feitas em um dos canais mesiais de 50 molares inferiores humanos extraídos e submetidos à ação do azul de metileno. Com o sucesso desse estudo inicial, o MTA começou a ser pesquisado e indicado não só no selamento de perfurações, como em outras finalidades: nas cirurgias parendodônticas como material retro-obturador; nas perfurações decorrentes de reabsorções internas e externas comunicantes; estimulador da apicificação; barreira intracoronária para realização de clareamento dental; como *plug* apical e também no tratamento conservador da polpa dental (nos casos de capeamento pulpar e pulpotomia) (TORABINEJAD; CHIVIAN,

1999; BERNABÉ; HOLLAND, 2003).

Os principais compostos presentes no MTA segundo Lee, Monsef e Torabinejad (1993) foram descritos como silicato tricálcico, aluminato tricálcico, óxido tricálcico e óxido de silicato. Em adição aos trióxidos, haveria outros óxidos minerais que seriam responsáveis pelas propriedades físicas e químicas do material. Segundo esses autores o pó do MTA seria constituído de finas partículas hidrofílicas, que tomam presa na presença da água.

As propriedades físicas e químicas do MTA foram estudadas por Torabinejad et al. (1995b) que informaram ser o material dividido em duas fases específicas, constituídas pelo óxido de cálcio e fosfato de cálcio. Também foi constatado que o pó de óxido de bismuto é adicionado ao agregado para deixá-lo radiopaco, seu pH inicial foi de 10,2 o qual aumentou para 12,5 três horas após ser misturado, permanecendo constante. O MTA neste estudo não mostrou solubilidade em água. Após 21 dias a resistência à compressão deste material foi igual a 67 Mpa.

O fato de o MTA poder ser usado em ambiente úmido, em função de sua composição (TORABINEJAD et al., 1995a; 1995b) e principalmente, como tem mostrado vários estudos *in vitro* e *in vivo*, pela sua biocompatibilidade, capacidade de prevenir microinfiltração, promover a formação de dentina, cimento e regeneração dos tecidos periradiculares (TORABINEJAD; CHIVIAN, 1999), tornam esse material versátil possibilitando a utilização em várias situações clínicas.

A resposta pulpar foi examinada histologicamente em trabalho realizado em doze dentes de macacos que tiveram polpa exposta capeada com MTA ou uma preparação de HC. Após cinco meses todas as seis polpas capeadas com MTA mostraram completa formação de barreira de dentina sendo que em cinco amostras não foi encontrada inflamação pulpar. Em compensação todas as seis polpas capeadas com HC, mostraram inflamação pulpar, e somente duas amostras apresentaram completa formação de barreira de dentina. Os autores relataram que a barreira formada com MTA foi contínua com a dentina adjacente. Túbulos dentinários foram observados na barreira, demonstrando um padrão mais organizado de resposta tecidual isolando o tecido pulpar do meio externo. Os autores afirmaram que a formação de dentina

adjacente pelo MTA poderia ser devido à habilidade seladora, biocompatibilidade, alcalinidade ou outras propriedades associadas com este material (PITT FORD et al., 1996).

Indicações e procedimentos para o uso do MTA são descritos por Torabinejad e Chivian (1999), que mencionaram a capacidade seladora, biocompatibilidade e formação de barreira de dentina como qualidades do material e descreveram os procedimentos clínicos para aplicação de MTA em casos de capeamento pulpar, apicificação, reparo de perfurações radiculares cirurgicamente ou não e, também, como material retro-obturador.

Em estudo realizado por Faraco Jr e Holland (2001) para observar a resposta de polpas dentais de cães após capeamento direto com MTA ou cimento contendo HC demonstrou que a análise histológica após dois meses de tratamento foi de completa formação de barreira de dentina tubular e nenhuma inflamação das polpas capeadas com MTA, em contraste com o grupo do HC, onde dos quinze dentes tratados, somente um terço formaram completa barreira de dentina e doze tiveram reação inflamatória.

Também foi avaliada a resposta pulpar, em estágio inicial da formação de dentina, em cavidades classe V de dentes de cães com polpas expostas capeadas com MTA nos períodos de tempo de uma, duas e três semanas, através de microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura e de transmissão. O estudo indicou que o MTA é um material capeador pulpar efetivo, capaz de estimular formação de dentina reparativa, pelo estereotípico mecanismo de defesa pulpar, onde a matriz primitiva (fibrodentina) desencadeia a expressão de células pulpare de potencial odontoblástico (TZIAFAS et al., 2002).

Dominguez et al. (2003) em estudo em que foi feito capeamento pulpar direto ou pulpotomia, em dentes de 15 cães de rua, com MTA, HC fotopolimerizável e adesivo dentinário (PQ1), analisaram histologicamente a resposta pulpar após 50 e 150 dias. Por intermédio de espectroscopia dispersiva de raios-X equipamento acoplado em microscopia eletrônica de varredura, foi avaliado o peso dos elementos presentes na barreira dentinária formada, comparando com área de dentina normal de dentes não

tratados. Histologicamente o MTA foi considerado o melhor material em manter a integridade da polpa tanto no capeamento pulpar como na pulpotomia em ambos períodos de tempo, embora no período de 50 dias não tenha havido diferença estatisticamente significativa entre os materiais.

Em trabalho realizado em dentes de cães foi avaliada a resposta pulpar após pulpotomia e proteção pulpar direta, com os materiais MTA Angelus, MTA (Dentsply), cimento Portland e cimento Portland branco. Todos os materiais após 120 dias proporcionaram resultados semelhantes, com a manutenção da vitalidade pulpar em todos espécimes, o reparo pulpar desencadeou a formação de barreira mineralizada (MENEZES et al., 2004).

Parirokh et al. (2005) analisaram a resposta pulpar de dentes de cães perante o uso como material capeador direto dos MTA cinza ou branco. Os autores afirmaram que o MTA branco teria sido criado porque o cinza pode descolorir, particularmente a coroa de incisivos, quando usados para capear ou selar perfurações. Os resultados do estudo mostraram sob análise histológica que em uma semana, barreira dentinária já poderia ser vista com o tratamento com os dois tipos de MTA, sem diferença significativa entre os mesmos.

A genotoxicidade e citotoxicidade do MTA branco e cinza *in vitro* foram examinadas pelo teste do cometa e teste de exclusão pelo azul de tripan, respectivamente (RIBEIRO et al., 2005). Os resultados sugeriram que o MTA regular e branco não são genotoxinas e não foram capazes de interferir na viabilidade celular.

Islam, Chng e Yap (2006) compararam as propriedades físicas e mecânicas do MTA cinza e branco (Dentsply) e do cimento Portland comum e branco. Evidenciaram que o MTA cinza e o cimento Portland têm muitas propriedades físicas similares. O pH dos dois tipos de MTA mediu, passados sessenta minutos após a mistura, em torno de 12,8.

Com o crescente número de pesquisas envolvendo o MTA como capeador pulpar, em dentes permanentes de animais e humanos, pesquisas direcionaram-se para estudar o uso deste material como agente capeador em decíduos, como alternativa ao formocresol e HC.

Molares de ratos pulpotomizados e capeados com *bioactive glass*, sulfato férrico, formocresol e MTA, foram analisados histologicamente após 2 e 4 semanas. Os resultados mostraram as amostras do MTA nas 2 semanas com leve inflamação aguda e formação de barreira e nas 4 semanas além de barreira a polpa apresentava-se histologicamente normal, sendo este material considerado pelos autores como o ideal para pulpotomia (SALAKO et al., 2003).

O uso do MTA cinza, MTA branco e do formocresol foi avaliado clinicamente, radiograficamente e histologicamente em dentes decíduos humanos pulpotomizados. Os dentes selecionados para avaliação clínica e radiográfica foram examinados periodicamente por 12 meses. Os dentes selecionados para análise histológica foram extraídos 6 meses após a pulpotomia. Descontando-se os dentes de pacientes que não retornaram para a avaliação, os que esfoliaram normalmente, os que abscederam (4 MTA branco e 1 formocresol), os 53 dentes remanescentes aparentaram sucesso clínico e radiográfico após doze meses. Histologicamente ambos os MTA demonstraram formação de barreira dentinária espessa, enquanto o formocresol induziu a formação de dentina fina e pobremente calcificada. Os dentes com MTA cinza mostraram arquitetura pulpar próxima da polpa normal, matriz fibrocelular delicada com poucas células inflamatórias ou calcificações isoladas. Dentes tratados com MTA branco mostraram um padrão fibrocelular denso, com mais calcificações isoladas ao longo do tecido pulpar. Os autores concluíram que o MTA cinza parece ser superior ao MTA branco e formocresol como capeador pulpar em dentes decíduos pulpotomizados (AGAMY et al., 2004).

Farsi et al. (2005) compararam clinicamente e radiograficamente o MTA e o formocresol quando usados como medicamentos em pulpotomia em molares decíduos humanos. Setenta e quatro molares (36 em que foram usados formocresol e 38 em que foram usados MTA) foram avaliados no fim de 24 meses. Os resultados mostraram que nenhum molar tratado com MTA mostrou patologia clínica ou radiográfica, já no grupo do formocresol o sucesso foi de 86,8% radiograficamente e 98,6% clinicamente. Os dentes com MTA demonstraram significativamente maior sucesso, concluindo os autores que o mesmo é capaz de substituir o formocresol em pulpotomia de dentes

decíduos.

Casas et al. (2005) observaram que o formaldeído, um dos componentes do formocresol, seria o responsável por três áreas de preocupação relacionadas ao mesmo: mutagenecidade, carcinogenecidade e imunossensibilização. Técnicas alternativas de pulpotomia, empregando sulfato férrico ou MTA promovem uma resposta mais biologicamente compatível, podendo ter resultados superiores que a técnica do formocresol.

2.3 Experimentação animal

Claude Bernard, por volta de 1865, em seus estudos de fisiologia lançou os princípios do uso de animais como modelo de estudo, enfatizando a aplicabilidade da experimentação animal aos humanos. Seu trabalho "Introdução ao Estudo da Medicina Experimental" procurou estabelecer as regras e os princípios para o estudo experimental da medicina (FAGUNDES; TAHA, 2004).

A experimentação animal é de suma importância nas pesquisas científicas, sendo extremamente relevante para o desenvolvimento da ciência e tecnologia. Sua importância é notada em diferentes áreas científicas, como exemplo de contribuições científicas oriundas de animais: o desenvolvimento da insulina, de vacinas contra diversas doenças e a produção de soros. Os experimentos em animais permitiram o uso terapêutico de antibióticos, bem como o desenvolvimento de técnicas de transplantes de órgãos e o uso de drogas e tranqüilizantes, anestésias e antidepressores (ANDRADE, 2004).

Na Odontologia, os testes em animais também são usados. Metodologias são executadas utilizando, implantação subcutânea, capeamento indireto e direto, pulpotomia, testes endodônticos, especialmente para avaliar a biocompatibilidade de materiais dentários (BROWNE, 1994; ISO 7405:1997). Entende-se como biocompatibilidade a habilidade de um material provocar o desfecho de uma resposta específica em um organismo ou tecido vivo (BROWNE, 1994).

As principais vantagens são que o uso de animais permite que os testes sejam feitos sob condições laboratoriais controladas, além do que o uso de modelos experimentais permite uma avaliação da biocompatibilidade dos materiais dentários antes de seu uso em humanos, podendo guiar a seqüência ou não da avaliação da terapia em humanos. Os materiais são avaliados dentro de sua indicação de aplicação clínica, ou seja, esmalte, dentina, polpa ou tecidos periapicais, permitindo que os materiais interajam com os tecidos e ainda com a variada microbiota presente no meio bucal, possibilitando ainda a comparação da técnica de emprego, dentro de um limite, às situações clínicas em dentes humanos. Não existem alternativas *in vitro*, que sejam confiáveis, para substituição destes testes em animais (BROWNE, 1994; MONDELLI, 1998; COSTA, 2001).

A regularização e a normatização de métodos de pesquisa que possibilitem avaliar a biocompatibilidade de materiais odontológicos usados em procedimentos clínicos têm sido motivo de preocupação de organizações como ISO (*International Organization for Standardization*) e ADA (*American Dental Association*) já há bastante tempo. Desta forma uma seqüência de testes recomendados para tal foram classificados em: a) Testes iniciais: citotoxicidade, hemólise, teste de Ames, teste de Styles, dose letal, toxicidade aguda LD₅₀ Oral, toxicidade aguda IP-LD₅₀, inalação aguda; b) Testes secundários: irritação da mucosa, toxicidade dérmica por exposição repetida, implantação subcutânea, implantação em tecido ósseo, sensibilização; c) Testes de aplicação (pré-clínicos): capeamento pulpar indireto, capeamento pulpar direto, pulpotomia, aplicação em endodontia (BROWNE, 1994; ISO 7405:1997).

O ideal para se avaliar a biocompatibilidade é que se faça pelo menos um protocolo de pesquisa de cada um dos três estágios (inicial, secundário e pré-clínico) mencionados acima (COSTA, 2001).

Weaver, Sorenson e Jump (1962) descreveram os atributos desejáveis de um animal experimental em pesquisa odontológica, sendo esses: a) Um padrão de crescimento semelhante ao humano; b) Um grau de crescimento adequado a estudos experimentais, rápido o suficiente para permitir resultados dentro de períodos razoáveis de tempo; c) Fisiologia similar à humana, incluindo mastigação e movimentos

maxilares; d) Tamanho adequado dos dentes e maxilares, para permitir procedimentos cirúrgicos ou restauradores; e) Acesso aos dentes e glândulas orais para procedimentos clínicos; f) Preço e custos de manutenção baixos.

A principal limitação da experimentação animal é a extrapolação dos resultados para os seres humanos. Esta é uma questão importante, pois alguns modelos animais são análogos às condições humanas. Deve-se levar em consideração entre outros aspectos às alterações evolucionais, diferenças entre as espécies, diversas reações às drogas e, até mesmo a dificuldade de recriar doenças humanas nestes modelos animais. Drogas podem não apresentar contra-indicações em animais e serem perigosas para humanos (BIRMAN, 1997).

As propriedades físicas e químicas da dentina são comumente variáveis entre as espécies, bem como composição da microbiota oral, variação de tamanho e forma dos dentes, anatomia dos canais radiculares. Embora existam poucos dados que indicam que tais diferenças entre espécies influenciam o resultado dos testes, por exemplo, variações na forma e tamanho de canais radiculares, podem trazer complicações nos testes endodônticos (BROWNE, 1994).

A presença de cáries dentinárias profundas, preparo de cavidade, material capeador e restaurador são agressões que podem invocar respostas pulpares que são acompanhadas por deposição de dentina reparativa. Dentes de diferentes espécies (provenientes de humanos, ratos, furões, macacos, cães entre outros) têm sido usados como modelos para o estudo de reparo dental. Entretanto é necessário cuidado para interpretação de resultados, pois a resposta pulpar pode diferir entre as espécies. Por exemplo, é sugerido que perante uma agressão, a resposta pulpar de dentes de ratos é mais forte em relação à formação de dentina reparativa que a de polpas de dentes humanos (SMITH, 2002; MITSIDIS; RAHIOTIS, 2004).

Watts e Paterson (1981) capearam polpas expostas de molares de ratos e cães com Dycal ou óxido de zinco e eugenol. Obtiveram resultados favoráveis para ambos os materiais nos dentes de rato, já nos dentes de cão os resultados foram menos favoráveis.

Costa, Hebling e Hanks (2000) realizaram uma revisão de literatura sobre a resposta pulpar após aplicação de sistemas adesivos em cavidades profundas ou com exposições pulpares. Relataram que achados histológicos favoráveis aos adesivos em estudos realizados em animais (macacos e ratos) não podem ser extrapolados diretamente as condições clínicas dos humanos, ressaltando a diferença de capacidade de resposta pulpar de cada espécie animal.

Ersin e Eronat (2005) avaliaram a biocompatibilidade de um adesivo (Prime & Bond 2.1) comparando com HC. Foram capeadas polpas expostas de dentes de carneiro e dentes humanos. Os autores concluíram que o adesivo facilita o reparo pulpar e formação de barreira em dentes de carneiro, mas em dentes de humanos o sucesso não é o mesmo comparado com o HC.

Importante ressaltar também, o custo relativamente alto para a maioria das metodologias aplicadas em animais. A maioria dos pequenos animais de laboratório não é adequada para estes estudos, necessitando de espécies mais caras, muitas vezes de difícil disponibilidade. O tempo relativamente longo de duração dos experimentos, criação e manutenção dos animais, ambiente cirúrgico apropriado para os procedimentos operatórios, possibilidade de perda de animais durante a pesquisa, são outras desvantagens de estudos *in vivo* (BROWNE, 1994; COSTA, 2001).

Os resultados de estudos realizados em animais aparentam maior similaridade com a experiência clínica que os estudos *in vitro*, mas estes resultados não podem ser extrapolados diretamente para as condições clínicas onde os materiais que estão sob avaliação são aplicados em dentes humanos (FREIRE; PATUSSI, 2001).

Diversos animais têm sido usados como modelos experimentais na Odontologia, destacando-se entre eles o uso de ratos, hamsters, macacos e cães. O uso de ratos (gênero *Rattus sp.*) é bem difundido por apresentar tamanho bastante satisfatório, quando comparado ao camundongo, sendo utilizado para grande multiplicidade de estudos. É de baixo custo e de fácil manejo e acomodação em laboratórios e biotérios. Baker (1998) relatou que animais de laboratório como ratos, camundongos e coelhos abrigam uma variedade de vírus, bactérias, parasitas e fungos, que, freqüentemente não levam a manifestações de doenças, por serem

patógenos naturais desses animais de laboratório, mas que muitos deles alteram a fisiologia dos animais, sendo impróprios para seu emprego experimental. Afirmam ainda que os pesquisadores devam ter conhecimento do efeito que estes agentes podem causar nas pesquisas, quando do uso destes animais.

Em relação aos macacos, vários gêneros e espécies são utilizados, como o macaco *Rhesus* (COX et al., 1987) e macaco *Cynomolgus* (PITT FORD; ROBERTS, 1991). São animais que necessitam de biotérios altamente especializados e de pessoal treinado para sua manipulação. São animais de alto custo, de difícil aquisição e de manutenção, e geralmente importados de outros países.

No que se refere aos cães, realmente são muito utilizados para experimentos em Odontologia. O cão de uso mais comum é o chamado cão de rua, de raça mista, que geralmente é capturado pelo serviço sanitário das prefeituras. Um cuidado no trato com estes animais se deve à doença infecciosa raiva, sendo obrigatória a vacinação e quarentena dos mesmos (JUNQUEIRA ; UBATUBA, 2005).

2.4 Modelo suíno

Um outro animal usado como modelo experimental é o suíno, considerado como um excelente modelo, sendo treinável, tratável e controlável, tornando-se uma espécie apropriada para projetos de pesquisa (ALMOND, 1996; HUSBY et al., 1998).

O suíno atual é criado em instalações confinadas, sem acesso a terra, extremamente limpas e desinfetadas com rigor. Sua sanidade melhorou drasticamente em virtude desses avanços nas instalações e manejo, existindo inclusive granjas livres de patógenos específicos. É um animal abatido até 5 ou 6 meses de idade com mais quantidade de carne magra do que gordura, diferentemente do porco tipo banha que perdurou até meados do século XX de onde vem os conceitos de animais criados na lama e com altos teores de gordura na carcaça (ROPPE, 2006).

Suínos e humanos apresentam muitas similaridades incluindo: tamanho, estrutura e órgãos internos, padrões alimentares, enzimas gástricas, sistema endócrino (MALAVASI; NYMAN, 2004).

Pound e Houpt (1978 apud Miller e Ullrey, 1987) ressaltaram ainda a similaridade entre os suínos e humanos em relação às características dentais, estrutura do olho e acuidade visual, morfologia e fisiologia renal e da pele, anatomia e fisiologia cardiovascular, e anatomia e fisiologia digestória (PEREIRA-SAMPAIO; FAVORITO; SAMPAIO, 2004).

Além disso, ele tem sido usado como modelo experimental em diversas outras áreas: embriologia, teratologia, toxicologia, imunologia, nutrição, diabetes, entre outras (BOOK; BUSTAD, 1974; ALMOND, 1996).

Em estudo macroscópico das características anatômicas da articulação temporomandibular de cães, gatos, ratos, coelhos, carneiros, cabras, vacas e suínos, Bermejo, Gonzalez e Gonzalez (1993), concluíram que somente o suíno pode ser selecionado como animal experimental em estudos desta estrutura articular.

Da mesma forma que os humanos o suíno é onívoro, apresentando sistema mastigatório completamente similar a estes, adaptado para processar uma larga variedade de gêneros alimentícios (WEAVER; SORENSON; JUMP, 1962; HERRING, 1976).

A dentição decídua dos suínos apresenta a seguinte fórmula dental, $2 (i \frac{3}{3}, c \frac{1}{1}, pm \frac{3}{3}) = 28$ dentes, enquanto que a fórmula dental para os permanentes é $2 (I \frac{3}{3}, C \frac{1}{1}, PM \frac{4}{4}, M \frac{3}{3}) = 44$ dentes (NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1979; SISSON, 1981; DYCE; SACK; WENSING, 1997).

O suíno nasce com oito dentes. Os terceiros incisivos e caninos decíduos superiores e inferiores, que podem injuriar a mama da mãe, e por isto freqüentemente são cortados ou desgastados pelos criadores algumas horas após o nascimento (NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1979; DYCE; SACK; WENSING, 1997). Os primeiros incisivos decíduos e os terceiros e quartos pré-molares decíduos superiores e inferiores, irrompem durante o primeiro mês. Os segundos pré-molares superiores e inferiores erupcionam ao redor dos dois meses e os segundos incisivos superiores e inferiores erupcionam entre dois e três meses completando a dentição decídua (NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1979; SISSON, 1981; DYCE; SACK; WENSING, 1997).

Ainda em relação à dentição decídua, os incisivos superiores, profundamente implantados no osso maxilar, apresentam uma coroa alargada, enquanto que os inferiores apresentam uma coroa alongada. Os 2º pré-molares superiores apresentam-se com duas cúspides, enquanto que os pré-molares restantes com 3 cúspides. Os pré-molares inferiores apresentam-se tricuspídeos, com exceção do 4º pré-molar que apresenta 4 cúspides. Os pré-molares superiores e inferiores apresentam-se geralmente com 2 raízes, não muito longas, com exceção dos 4º pré-molares que apresentam 4 a 5 raízes. Há diastemas acentuados nos dois arcos entre os dentes anteriores e os posteriores (NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1979; SISSON, 1981; DYCE; SACK; WENSING, 1997). Os primeiros pré-molares superiores e inferiores decíduos estão ausentes ou se presentes não erupcionam (NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1979).

Por volta dos cinco meses nascem os primeiros dentes permanentes, os primeiros pré-molares e primeiros molares. O suíno estará no mínimo com um ano e meio de idade antes que adquira sua dentição permanente completa (Quadro1).

Quadro 1 - Cronologia de erupção dos dentes de suínos (SISSON, 1981).

Dentes	Erupção	Muda
I 1	2 a 4 semanas	12 meses
I 2	superior, 2 a 3 meses inferior, 1 1/5 a 2 meses	16 a 20 meses
I 3	antes do nascimento	8 a 10 meses
C	antes do nascimento	9 a 10 meses
P 1	5 meses	
P 2	5 a 7 semanas	12 a 15 meses
P 3	superior, 4 a 8 dias inferior, 2 a 4 semanas	12 a 15 meses
P 4	superior, 4 a 8 dias inferior 2 a 4 semanas	12 a 15 meses
M 1	4 a 6 meses	
M 2	8 a 12 meses	
M 3	18 a 20 meses	

Diante de tantas similaridades fisiológicas o suíno seria o animal ideal para as pesquisas *in vivo* quando não fossem realizadas em humanos. O suíno é um animal resistente, e pode ser imunizado contra a maioria das infecções (WEAVER; SORENSON; JUMP, 1962).

Os suínos possuem ainda outras vantagens que podem resultar no acréscimo do uso desta espécie em futuros experimentos científicos, como a obediência e fácil manejo que permitem coletas frequentes de amostras (ALMOND, 1996).

Por outro lado, os suínos também apresentam desvantagens que devem ser levadas em consideração. Algumas raças são portadoras do gene halotano (gene *hal*) em homozigose recessiva (*nn*) que determina o aparecimento da Síndrome da Hipertermia Maligna ou Síndrome do Estresse Porcino (PSS) (MOON; SMITH, 1996; BASTOS, 1998). As manifestações clínicas observadas são: rigidez muscular, aumento do consumo do O₂ e produção de CO₂, taquicardia, taquipnéia, hipertermia, hiperpotassemia e rabdomiólise (MOON; SMITH, 1996). Massone (2003) comenta que as raças mais suscetíveis são as Pietrain e Landrace.

Esta doença hereditária determina após o abate do animal o surgimento de carne de qualidade inferior (pálida, mole e exudativa), que não se adapta a industrialização, e também está relacionada com mortalidade durante o transporte dos animais. Potencialmente fatal, esta síndrome pode ser desencadeada em animais suscetíveis, pelo calor, superlotação, exercícios vigorosos, trocas ambientais, estresse do transporte e abate, e também administração de anestésico à base de halotano. As raças Large White, Duroc, são as menos suscetíveis a PSS. A raça Landrace apresenta considerável frequência de homozigose recessiva do gene *hal*, porém a raça com alta frequência é a Pietrain (BASTOS, 1998).

O crescimento rápido aliado ao grande apetite são fatores complicadores para o uso deste animal (WEAVER; SORENSON; JUMP, 1962).

O tamanho e conformação do suíno podem ser mudados relativamente rápidos por causa do alto grau de hereditariedade das características de conformação do corpo, em curto intervalo de tempo (MILLER; ULLREY, 1987).

Para minimizar a dificuldade em relação ao tamanho do animal, England, Winters e Carpenter (1954 apud Mariano, 2003) começaram os estudos para o desenvolvimento de miniaturas de suínos alcançando seus objetivos em 1965. Desde então várias linhagens de suínos miniaturas foram desenvolvidas (MARIANO, 2003). Porém são de alto custo e de pouca disponibilidade.

Apesar destas desvantagens, a espécie suína como modelo experimental tem sido amplamente utilizada na pesquisa biomédica nas ultimas décadas, sendo na Odontologia usada em pesquisas de várias especialidades (PAIVA-NOVAES; FERREIRA; NICOLAU, 1989; LE GOOF et al., 1999; VALIATI, 2000; SCHIERANO et al., 2005).

Testes pré-clínicos de biocompatibilidade utilizando suínos como modelo experimental aparecem na literatura usando na maioria das vezes raças miniaturizadas, como descrito a seguir.

Oguntebi, Clark e Wilson (1993) avaliaram a reação inflamatória e formação de dentina reparativa de polpas mecanicamente expostas após capeamento pulpar com os materiais Bioglass[®], Life, Matriz de Dentina Desmineralizada (DDM), em dentes incisivos, pré-molares e molares de miniatura de suínos com idade de 20 a 24 meses, através de secções seriadas desmineralizadas (reação inflamatória) e microradiografias de secções não descalcificadas (formação de dentina reparativa). Foram feitas cavidades classe V em 48 dentes, e os animais foram mortos após 90 dias sendo os materiais Life e Bioglass os que apresentaram barreira de dentina completa em todas as amostras e os materiais Life e DDM os que apresentaram as maiores incidências de resposta inflamatória. As polpas capeadas com Life mostraram moderada a severa resposta inflamatória. Duas destas amostras mostraram severa inflamação com zona de tecido necrótico abaixo da barreira de dentina reparativa, e as amostras remanescentes mostraram moderada inflamação pulpar, alguma hemorragia e vasos sanguíneos dilatados. A dentina reparativa foi tubular sobre a polpa dental que exibiu uma moderada resposta inflamatória e atubular sobre a polpa que exibiu necrose tecidual superficial.

Em dentes decíduos pulpotomizados de suínos jovens foi feita avaliação clínica, radiográfica e histológica dos efeitos do laser de argônio sobre a polpa. Grupos experimentais de nove dentes receberam dose de laser de argônio de 1 W ou 2W/seg, para cada período de tempo do estudo (7 e 60 dias). Nenhuma diferença significativa foi notada nos três parâmetros estudados nos dois períodos. Histologicamente foi observada formação de dentina reparativa em nove dentes do grupo de 7 dias e em 13 dentes do grupo de 60 dias. Os autores concluíram que com base nos resultados do estudo o laser de argônio não é prejudicial à polpa (WILKERSON; HILL; ARCORIA, 1996).

Em estudo em que foi investigada a indução da formação de dentina, pela proteína-1 osteogênica humana recombinante, foram colocados como agentes capeadores, em polpas expostas de incisivos e caninos de suínos miniatura, um complexo de hOP-1 recombinante em matriz de colágeno, somente a matriz de colágeno ou pasta de HC. Os animais foram sacrificados após 5 semanas e ao exame histológico o complexo hOP-1/colágeno mostrou-se útil como capeador pulpar direto, apresentando inclusive espessura de barreira de dentina sempre significativa maior que os dentes capeados com HC, sendo que dos quatro dentes capeados com HC, somente 2 apresentaram barreira de dentina completa e sempre formada profundamente ao sítio de exposição (JEPSEN et al., 1997).

Outra proteína também foi estudada na indução da formação de dentina reparativa, a matriz derivada do esmalte (EMD), sem causar efeitos adversos no remanescente pulpar de dentes incisivos inferiores pulpotomizados de miniatura de suínos (NAKAMURA et al., 2002). Sob análise histomorfométrica, a quantidade de dentina formada nos dentes tratados com EMD, foi significativa maior que os tratados com Dycal, o material controle. A avaliação foi feita nos períodos de 3, 4 e 8 semanas. A avaliação de 3 semanas mostrou nas amostras com Dycal, necrose tecidual junto do material capeador, uma zona de pré-dentina recentemente formada sobre e ao longo da parede de dentina circumpulpar subjacente ao sítio de exposição, e a maioria das amostras com tecido necrótico superficial, provocada pela cauterização química induzida pelo material (NAKAMURA et al., 2002).

No período de quatro semanas houve formação de tecido duro que lembrava dentina secundária, formando-se junto às paredes da câmara pulpar, provocando um significativo estreitamento da mesma, sem formar barreira de dentina sobre a polpa. Após oito semanas, 5 dos sete dentes controles tratados com Dycal, mostraram completo fechamento da ferida pulpar. Em dois destes cinco dentes a formação de nova dentina secundária foi às expensas da câmara pulpar radicular causando severo estreitamento do canal radicular. Dos outros dois casos, em um deles não houve formação de barreira completa e no outro restante não houve formação de nova dentina, e sim uma moderada inflamação e sinais de reabsorção interna (NAKAMURA et al., 2002).

Em dentes decíduos pulpotomizados de suínos jovens foi feita avaliação clínica, radiográfica e histológica dos efeitos do laser de argônio sobre a polpa. Grupos experimentais de nove dentes receberam dose de laser de argônio de 1 W ou 2W/seg, para cada período de tempo do estudo (7 e 60 dias). Nenhuma diferença significativa foi notada nos três parâmetros estudados nos dois períodos. Histologicamente foi observada formação de dentina reparativa em nove dentes do grupo de 7 dias e em 13 dentes do grupo de 60 dias. Os autores concluíram que com base nos resultados do estudo o laser de argônio não é prejudicial à polpa (WILKERSON; HILL; ARCORIA, 1996).

Oguntebi, Clark e Wilson (1993) avaliaram a reação inflamatória e formação de dentina reparativa de polpas mecanicamente expostas após capeamento pulpar com os materiais Bioglass®, Life, Matriz de Dentina Desmineralizada (DDM), em dentes incisivos, pré-molares e molares de miniatura de suínos com idade de 20 a 24 meses, através de secções seriadas desmineralizadas (reação inflamatória) e microradiografias de secções não descalcificadas (formação de dentina reparativa). Foram feitas cavidades classe V em 48 dentes, e os animais foram mortos após 90 dias sendo os materiais Life e Bioglass os que apresentaram barreira de dentina totalmente completa em todas as amostras e os materiais Life e DDM os que apresentaram as maiores incidências de resposta inflamatória. As polpas capeadas com Life mostraram moderada a severa resposta inflamatória. Duas destas amostras mostraram severa

inflamação com zona de tecido necrótico abaixo da barreira de dentina reparativa, e as amostras remanescentes mostraram moderada inflamação pulpar, alguma hemorragia e vasos sanguíneos dilatados. A dentina reparativa foi tubular sobre a polpa dental que exibiu uma moderada resposta inflamatória e a tubular sobre a polpa que exibiu necrose tecidual.

3 JUSTIFICATIVA

Embora as evidências científicas confirmem os bons resultados histológicos e clínicos da aplicação de HC sobre o tecido pulpar, existem algumas limitações relacionadas ao seu uso. Os materiais contendo HC não são os únicos materiais com capacidade de induzir o reparo pulpar. Outros materiais como MTA devem ser melhor investigados em função de seu potencial como material estimulador de resposta de reparo pulpar.

Na Odontologia, modelos animais são amplamente utilizados para experimentos em dentes: implantação subcutânea, capeamento pulpar indireto, capeamento pulpar direto, pulpotomia, testes endodônticos, especialmente para avaliar a biocompatibilidade de materiais dentários. De um modo geral, a maioria dos pequenos animais de laboratório é pouco adequada para estes estudos principalmente em função do tamanho dos dentes e dificuldade de acesso para abordagem, necessitando de animais maiores. Além de gerar um custo maior de manejo por necessitar de infra-estrutura de biotério, a utilização desses animais é ainda desencorajada cada vez mais por questões referentes à ética da utilização de animais em experimentos.

A possibilidade de utilização de modelo suíno doméstico (*Sus scrofa domestica*) apresenta grande potencial para aplicação em pesquisas, justificado principalmente pela filogenicidade semelhante ao humano e também pela facilidade de obtenção, por ser um animal de criação destinada ao abate e de baixo custo. Contudo a viabilidade da utilização deste modelo suíno para testes pré-clínicos de biocompatibilidade foi até o momento pouco investigada.

4 OBJETIVOS

Os objetivos deste estudo foram:

- a) Avaliar histologicamente em dois intervalos de tempo a resposta pulpar frente à aplicação em dentes decíduos, de cimento contendo Hidróxido de Cálcio ou Agregado Trióxido Mineral.
- b) Abordar aspectos técnicos e econômicos referentes a utilização do modelo suíno utilizado no presente estudo, para testes de resposta pulpar.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

Esta pesquisa foi realizada, *in vivo*, em dentes decíduos incisivos e pré-molares inferiores de suínos domésticos provenientes do Centro Agropecuário da Palma, Universidade Federal de Pelotas (UFPeI) e do Conjunto Agrotécnico Visconde da Graça (CAVG) da UFPEL, Pelotas, RS.

Os suínos usados neste estudo foram da espécie *Sus scrofa domesticus*, oriundos de cruzamento de raças industriais convencionalmente utilizadas nos sistemas de produção (Landrace X Large White).

Os animais apresentavam idade de aproximadamente 105 dias (± 10 dias) com peso aproximado de 40 kg (± 5 Kg). Os mesmos foram submetidos aos procedimentos operatórios, sendo que após um determinado intervalo de tempo os animais eram abatidos. Os procedimentos operatórios foram realizados em bloco cirúrgico do Hospital de Clínicas Veterinária (HCV) da Faculdade de Veterinária da UFPeI, localizado no Campus Universitário da UFPeI. Uma equipe multidisciplinar de Médicos Veterinários e de Odontólogos acompanhou simultaneamente os procedimentos em ambiente hospitalar. Os procedimentos operatórios da Odontologia foram realizados somente por um único profissional devidamente treinado.

O presente trabalho foi desenvolvido com a aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da UFPeI, (Ata 03/2005) conforme documento em Anexo A. O estudo foi conduzido obedecendo aos princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) (Anexo B) e de acordo com a Lei Federal nº 6638, de 08 de Maio de 1979 (ANEXO C).

5.1 Protocolo anestésico

Os procedimentos anestésicos foram realizados por profissional médico veterinário em ambiente de bloco cirúrgico do HCV da UFPeI, seguindo protocolo de anestesia geral de Massone (2003). Os animais foram inspecionados por Médico

Veterinário e pesados para cálculo da dose de medicação anestésica.

Os suínos permaneceram em jejum alimentar por 12 horas e hídrico por duas horas antes do procedimento. Este jejum pré-operatório visou reduzir a probabilidade da ocorrência de emese seguido de aspiração, que poderia resultar em pneumonia (MOON; SMITH, 1996).

Foi utilizado como medicação pré-anestésica (MPA) a associação de cloridrato de acepromazina na dose de 0,1 mg/kg; cloridrato de ketamina na dose de 2 mg/kg e o cloridrato de tramadol na dose de 2 mg/kg, aplicados por via intramuscular profunda. Após dez a quinze minutos da aplicação da MPA, ocorreu a devida sedação, permitindo melhor manipulação e facilitando os procedimentos de venopunção e fixação do cateter.

A MPA, ato que antecede a anestesia, prepara o animal para o sono artificial, dando-lhe a devida sedação, suprimindo-lhe a irritabilidade, a agressividade e possíveis reações indesejáveis causadas pelos anestésicos. Além disso, o uso da MPA reduz a dor e o desconforto e os riscos de excitação barbitúrica além de potencializar o efeito de outras drogas anestésicas.

A venóclise foi feita com o animal na mesa cirúrgica, em posição de decúbito lateral, utilizando-se um cateter nº 24 G, na veia marginal da orelha. O Tiopental Sódico foi utilizado na indução anestésica, na dose de 12,5 mg/kg, por via endovenosa.

Após a indução o animal foi colocado de decúbito ventral e a boca foi aberta com o auxílio de compressas de gaze, procedendo-se a entubação orotraqueal, auxiliada por laringoscópio com autofoco e lâmina curva. A sonda endotraqueal utilizada foi do tipo Magil nº 8 com "*cuff*". Depois de verificado o posicionamento adequado da sonda, a mesma foi fixada à mandíbula do animal com fita adesiva.

Após a entubação foi acoplado à sonda o circuito do aparelho de anestesia inalatória, utilizando o Halotano ao efeito como agente anestésico volátil, conseguindo-se dessa forma a manutenção anestésica.

Os agentes inalatórios são indicados para procedimentos com duração acima de 15 a 30 minutos. A justificativa é que os anestésicos inalatórios promovem anestesia mais suave e com fácil controle dos planos anestésicos, além da rápida recuperação anestésica em comparação a muitos agentes injetáveis (MOON; SMITH, 1996).

No pós-operatório imediato, a analgesia foi feita com a aplicação de morfina, na dose de 0,2 mg/kg, por via intramuscular profunda.

Pelo tipo de procedimento cirúrgico realizado foi julgado desnecessário o prolongamento da terapia analgésica pós-operatória (MALAVASI; NYMAN, 2004).

5.2 Preparo cavitário e exposição pulpar

Os suínos foram contidos e sob anestesia geral se realizou a adequação do dente a ser abordado e da região oral adjacente. Inicialmente foi feita no dente a ser abordado profilaxia com pasta profilática e escovas de Robson.

A abordagem em esmalte foi feita na face vestibular com ponta diamantada esférica # 1014 (KG Sorensen Ind. & Com. Ltda., SP) montada em peça de alta rotação, sob constante refrigeração ar-água, para evitar excessiva geração de calor que pudesse oferecer risco de conseqüentes lesões pulpares. Brocas carbide # 330 (KG Sorensen Ind. & Com. Ltda., SP) foram utilizadas em dentina.

As brocas carbide e pontas diamantadas utilizadas no estudo eram descartadas após o preparo de cinco dentes, com o objetivo de manter a efetividade de corte.

A conformação da cavidade teve a profundidade semelhante ao diâmetro ($1,4 \text{ mm} \pm 0,2 \text{ mm}$) da ponta ativa da broca #1014 e a largura de 1 e $\frac{1}{2}$ vezes o diâmetro da ponta ativa desta mesma broca ($2,1 \text{ mm} \pm 0,2 \text{ mm}$).

O preparo cavitário (Fig. 1) foi aprofundado até a ocorrência de exposição da polpa.



Figura 1 - Preparo cavitário em dente incisivo

Na iminência da exposição do órgão pulpar, o dente era isolado com lençol de borracha e grampos para isolamento (Fig. 2) e foi eleito um local de maior proximidade para a realização da exposição pulpar. Portanto, o tamanho da exposição foi determinado pelo diâmetro da ponta ativa da broca carbide #330 ($0,8 \text{ mm} \pm 0,1 \text{ mm}$).



Figura 2 - Isolamento em dente incisivo

Um *stop* de silicone foi utilizado para delimitar a profundidade de trabalho da broca, como cuidado no sentido de evitar a intrusão da broca no órgão pulpar, o que poderia prejudicar o reparo e dificultar a análise histológica do tecido.

5.3 Hemostasia pulpar

Com a exposição pulpar alcançada o preparo cavitário foi irrigado com soro fisiológico 0,9% (SILVA et al., 2006) e com o auxílio de bolinhas de algodão estéril, aplicadas sob leve pressão na área de exposição por 30 segundos, para realização da hemostasia pulpar. Uma bolinha de algodão levemente umedecida em soro foi utilizada para fazer uma limpeza local, evitando assim a formação de coágulo. O controle da umidade foi realizado com auxílio de bolinhas de algodão estéril, aplicadas no local da exposição. Se durante o capeamento pulpar o sangramento recomeçasse, todos os passos para conter a hemorragia seriam repetidos.

5.4 Amostra e periodicidade dos estudos

Os dentes usados neste estudo foram os dentes decíduos inferiores, 1º e 2º incisivos (Figs. 3 e 5), 2º e 3º pré-molares (Figs. 4 e 6), totalizando 48 dentes de seis animais.

A escolha pelos dentes decíduos foi motivada pelo fato de que os primeiros dentes permanentes erupcionam entre 4 a 6 meses (1º pré-molar e 1º molar). Optando-se por dentes permanentes neste modelo animal, um número maior de animais talvez fosse necessário pois ocasionalmente o primeiro pré-molar permanente inferior pode não erupcionar (NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1979). Além do que no término do segundo período de avaliação encontrar-se-iam suínos com tamanho e peso excessivos, dificultando manutenção e o manuseio.



Figura 3 – 1º e 2º incisivos de suíno abatido aos 4 meses de idade



Figura 4 – 2º e 3º pré-molares de suíno abatido aos 4 meses de idade



Figura 5 – 2º incisivo de suíno abatido aos 6 meses de idade



Figura 6 – 2º e 3º pré-molares de suíno abatido aos 6 meses de idade

Os dois materiais testados foram o cimento Agregado Trióxido Mineral cor cinza (MTA Angelus[®], Londrina, PR, Brasil) e o cimento contendo Hidróxido de Cálcio (Dycal[®], Dentsply Caulk, Milford, EUA) (Figs. 7 e 8) (Quadro 2). O material restaurador aplicado nas cavidades, sobre os cimentos MTA e Dycal[®] foi o cimento de ionômero de vidro modificado por resina, Vitremer^{MR} (3M ESPE, St Paul, MN, USA) (Figura 9) (Quadro 2).



Figura 7 – Agregado Trióxido Mineral (MTA Angelus®)



Figura 8 – Cimento contendo HC (Dycal®)



Figura 9 – Material restaurador utilizado. Cimento de Ionômero de Vidro Modificado por Resina (Vitremer^{MR} 3M ESPE)

Quadro 2 - Informações sobre os materiais utilizados.

Material	Fabricante	Lote	Composição
Cimento com Hidróxido de Cálcio Dycal®	Dentsply Caulk – Dentsply International Inc.	20905	Pasta Base: ester glicol salicilato, fosfato de cálcio, tungstato de cálcio, óxido de zinco e corantes minerais. Pasta Catalisadora: etiltolueno sulfonamida, hidróxido de cálcio, óxido de zinco, dióxido de titânio, estereato de zinco e corantes minerais.
MTA-ANGELUS®	Ângelus Indústria de Produtos Odontológicos Ltda, Londrina, PR	1363 1904	Pó: SiO ₂ , K ₂ O, Al ₂ O ₃ , Na ₂ O, Fe ₂ O ₃ , CaO, Bi ₂ O ₃ , MgO e resíduos insolúveis (sílica cristalina, óxido de cálcio e sulfato de potássio e sódio). Líquido: Água destilada
Cimento de Ionômero de vidro Vitremer®	3M Espe, St Paul, MN, USA	Pó: 4JH Líquido: 4CN Primer: 4AU	Pó: Cristais de fluoralumíniosilicato, persulfato de potássio, ácido ascórbico e pigmentos. Líquido: Ácido polialcenóico, grupos metacrilatos, água, HEMA, canforoquinona. Primer: copolímero do ácido polialcenóico modificado, grupos metacrilatos, etanol, canforoquinona.

Descontando-se as perdas ocasionadas na extração ou no processamento dos dentes, foram formados grupos a partir da combinação de materiais testados e

intervalo de tempo. Cada grupo em que o MTA foi utilizado, apresentou 13 dentes, nos dois períodos de tempo (Grupos MTA_7d e MTA_70d). Quando da utilização do material Dycal, o grupo do período de 7 dias (HC_7d) conteve 8 dentes e o grupo do período de 70 dias (HC_70d) teve 6 dentes. O delineamento do estudo está descrito no Quadro 3.

A distribuição dos materiais nos dentes se deu de forma aleatória objetivando uma distribuição homogênea entre os grupos de dentes incisivos e pré-molares (Quadro 3).

Quadro 3 - Formação dos grupos Dycal e MTA.

GRUPO	MATERIAL	PERÍODOS DE AVALIAÇÃO	Dentes		
			Total n (%)	Incisivos n (%)	Pré-Molares n (%)
HC_7d	Dycal	7 dias	8 (100)	3 (38)	5 (62)
HC_70d	Dycal	70 dias	6 (100)	2 (33)	4 (67)
MTA_7d	MTA	7 dias	13 (100)	6 (46)	7 (54)
MTA_70d	MTA	70 dias	13 (100)	5 (38)	8 (62)

Após os tratamentos pulpares os dentes foram extraídos obedecendo aos tempos de avaliação pré-estabelecidos de 7 ($\pm$ 2) e 70 ($\pm$ 5) dias. Esses intervalos foram programados com base nos intervalos propostos pela ISO 7405:1997.

5.5 Protocolo de aplicação dos materiais

O cimento Dycal foi manipulado conforme as instruções do fabricante, em bloco de papel que acompanha o material, e aplicado diretamente sobre a área da exposição pulpar, com aplicador de cimento de Hidróxido de Cálcio Duflex® (S. S. White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, RJ).

A manipulação do cimento MTA foi realizada de acordo com as instruções do fabricante, fazendo-se a mistura do pó com água destilada obedecendo à proporção de uma medida do pó para cada gota de água destilada fornecida pelo fabricante. O

proporcionamento do pó foi realizado através da colher dosadora que acompanha o material.

Foi utilizada para a manipulação deste material, placa de vidro lisa grossa (Daufenbach e Daufenbach, Criciúma, SC) estéril e espátula 24 flexível da marca Duflex® (S. S. White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, RJ). A mistura foi realizada por 30 segundos incorporando-se o pó, em pequenas proporções, ao líquido. A massa resultante da mistura deveria apresentar-se homogênea, arenosa e úmida após a espatulação.

Após a manipulação, o MTA, foi aplicado diretamente sobre a área da exposição pulpar, com um porta amálgama 10A PF (S. S. White Artigos Dentários Ltda, Rio de Janeiro, RJ) estéril. Leve pressão foi aplicada com bolinha de algodão úmido para acomodar o material e remover excesso das paredes cavitárias.

O cimento de ionômero de vidro, Vitremer^{MR}, material restaurador aplicado nas cavidades, foi usado conforme as instruções do fabricante. A escolha por esse material restaurador se deu em função da conveniência e rapidez de uso e boa capacidade de selamento.

Para aplicação do primer do ionômero foram empregados aplicadores tipo micropincel (Microbrush, Kerr, Romulus, NY, EUA), uma única camada era aplicada em toda a cavidade sendo após fotoativada por 20 s. Em seguida era realizada a aplicação do cimento de Ionômero de vidro com aplicador tipo Centrix (DFL Indústria e Comércio Ltda, Rio de Janeiro, RJ). A cavidade era preenchida deixando-se um leve excesso de material restaurador sobre as margens, após a remoção de excessos o material era fotoativado por 40 s. A unidade fotoativadora XL 3000 (3M ESPE, St Paul, MN, USA) com intensidade $\leq 450 \text{ mW/cm}^2$ foi utilizada durante o experimento para a fotoativação do íonômero. A intensidade foi monitorada por radiômetro (Model 100 Curing Unit, Demetron Research, Kerr, USA) com a finalidade de monitorar a eficiência do aparelho.

5.6 Abate dos animais e preparo dos espécimens

Após os procedimentos operatórios realizados no HCV, os animais foram transportados de volta para o Centro Agropecuário da Palma ou para o Conjunto

Agrotécnico Visconde da Graça, distante cada um deles cerca de 20 Km deste hospital, no mesmo veículo e da mesma forma usada para o transporte inicial, ou seja em gaiolas adequadas para o transporte de animais que o biotério da UFPEL dispõe. Durante a pesquisa os animais permaneceram alojados e mantidos em condições de confinamento com baias individuais medindo aproximadamente 4 m² com piso de concreto armado frio com declividade para calha receptora de dejetos. A dieta era constituída de ração farelada para suíno tipo crescimento, havia disponibilidade permanente de água para beber em bebedouro tipo chupeta e a limpeza das baias era realizada diariamente com água.

Após o abate dos animais na forma convencional de frigoríficos, nos períodos pré-determinados, as extrações foram realizadas imediatamente.

A extração de cada dente tratado foi feita junto com os tecidos duro e mole circunjacentes, em um único bloco (Fig. 10)

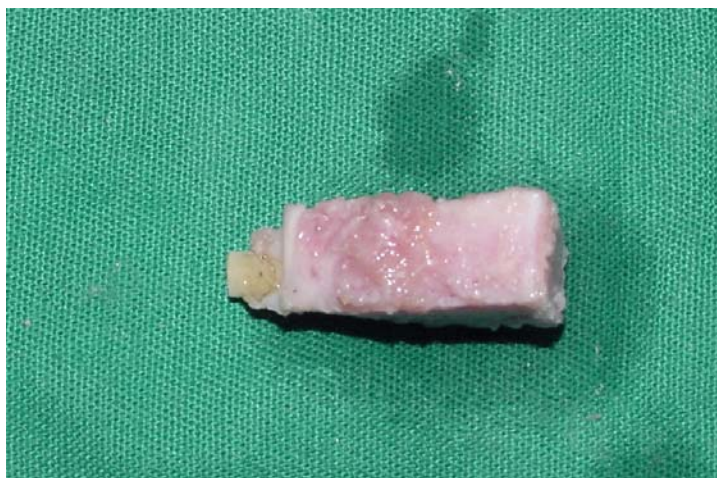


Figura 10 – Extração em bloco do 1º incisivo inferior

Foram utilizadas para isso serras manuais e quando possível alavancas e osteótomo para a extração dos dentes.

Depois de removido o dente do alvéolo, os ápices radiculares foram seccionados até a altura do terço médio da raiz, com uma ponta diamantada, sob refrigeração ar/água, sendo então o dente imediatamente imerso em formol a 10% por

48 horas. Para que não houvesse perda de qualidade acarretada por fixação deficiente de formol, todo o processo compreendido desde a morte do animal até o término da extração dos dentes e imersão em formol não deveria extrapolar 5 minutos.

5.7 Processamento dos dentes

A técnica de processamento dos espécimens realizada foi baseada na especificação ISO 7405:1997 (*The International Organization for Standardization*) .

Após a fixação em formol a 10%, na sequência, os dentes foram desmineralizados em ácido fórmico a 20%, por 3 a 4 semanas. Posteriormente, os dentes foram seccionados transversalmente ao seu longo eixo, nas proximidades da cavidade de classe V (a qual se situou na face vestibular da coroa), separando, assim, a coroa da raiz. A porção coronária da polpa pôde ser analisada histologicamente no sentido vestibulo-lingual (Figs. 12A a 12C, Fig. 12E, Fig. 12G, Fig. 12H, Fig. 13A , Fig. 13B, Figs. 13D a 13H, Figs. 14A a 14H) e no sentido inciso-cervical (Figs. 12F e 13C). A polpa radicular dos espécimens foi hemiseccionada paralelamente ao seu longo eixo frontal (sentido cérvico-apical) em toda sua extensão (Fig. 12D).

Os espécimens foram então lavados em água corrente, por 48 horas aproximadamente, sendo em seguida desidratados em cadeia ascendente de etanol, diafanizados em xilol, emblocados em parafina, para que se procedesse à realização das secções seriadas de 3 µm utilizando micrótomo.

Como medida de aleatorização realizada na escolha dos cortes para a leitura foi adotada uma sistemática de corte em que o material era coletado em determinado local do espécimen após um sorteio. Essa medida foi adotada no sentido de minimizar e efeito da subjetividade do operador na escolha dos cortes. O primeiro corte com aspecto visual de exposição pulpar a ser identificado recebeu a denominação coordenada zero. As seis coordenadas seguintes foram escolhidas de modo aleatório por sorteio utilizando o programa *Randomizer* (www.randomizer.org). Se o corte correspondente à coordenada utilizada estivesse danificado foi utilizado o corte seguinte para montagem da lâmina. Feito isso, os cortes foram corados através da técnica de rotina da hematoxilina-eosina (HE).

Dois cortes de cada dente foram selecionados para serem processados pela técnica de coloração Brown e Hoops, com o objetivo de verificar a presença de bactérias Gram positivas e Gram negativas nos cortes (BROWN; HOPPS, 1973). O corte imediatamente após os coletados para HE com aspecto íntegro eram destinados à coloração Brown e Hoops. A fidedignidade das reações foi confirmada pela positividade de amostra controle de um dente cariado humano.

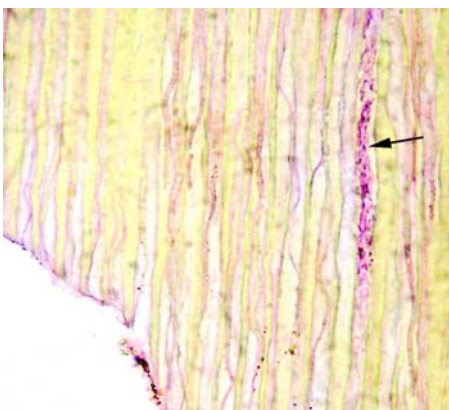


Figura 11 – Controle Positivo demonstrando a presença de bactérias em dentina contaminada (BH, 1000x).

5.8 Análise dos resultados

Os cortes histológicos obtidos foram posteriormente examinados ao microscópio óptico, baseados nos critérios estabelecidos pela ISO 7405 e por Akimoto et al. (1998).

Inicialmente foi feita a análise morfológica descritiva da amostra (Quadro 4), com o objetivo de avaliar a resposta pulpar em modelo animal. Duas examinadoras devidamente qualificadas e treinadas realizaram a análise morfológica descritiva e a avaliação dos espécimes de acordo com os escores pré-estabelecidos. Quando havia discordância na atribuição de escore, o corte era reavaliado pelos examinadores até a obtenção de um consenso.

Os critérios de análise foram: inflamação, organização tecidual, dentina reacional e reparativa (Quadro 4).

Quadro 4 - Descrição dos escores avaliados.

Resposta Avaliada	Escore atribuído			
	Grau 0	Grau 1	Grau 2	Grau 3
Resposta Inflamatória	(Ausente): quando poucas células inflamatórias ou nenhuma foram encontradas no local da exposição ou abaixo da barreira de dentina.	(Discreta): quando a polpa apresentou discreto infiltrado inflamatório, constituídos principalmente por leucócitos polimorfonucleares ou mononucleares.	(Moderada): quando mais de um terço da polpa coronária encontrou-se com infiltrado inflamatório, composto por leucócitos polimorfonucleares ou mononucleares.	(Severa): quando o tecido pulpar apresentou-se amplamente necrosado, com a presença de células inflamatórias crônicas.
Organização Tecidual	(Normal): quando não houve injúria ou morte teciduais.	(Perda localizada): quando existiu necrose superficial das células pulpares no local da injúria.	(Perda extensa): quando existiu extensa área de necrose pulpar, além do local da exposição.	---
Dentina Reacional	(Ausente): nenhuma evidência de deposição de dentina no sítio da exposição.	(Discreta): quando existiu discreto aumento de deposição de dentina, constituindo-se de uma fina camada produzida pelos odontoblastos primários;	(Intensa): quando existiu espessa e uniforme camada de deposição de dentina reacional.	---
Dentina Reparativa	(Ausente): quando não existiu deposição de dentina pelas células odontoblastóides;	(Discreta): quando existiu alguma deposição de dentina pelas células odontoblastóides no local da exposição, apresentando-se em áreas focais;	(Intensa): quando existiu deposição uniforme de dentina pelas células odontoblastóides no local da exposição.	---

5.9 Análise estatística

A partir dos escores atribuídos para os critérios avaliados, realizou-se a tabulação de dados para a análise estatística. O software utilizado para tal análise foi o Sigmastat 3.01 (Systat Software, Richmond, California, USA). Todos os testes foram realizados com nível de significância fixado a 5% ($\alpha = 0,05$).

Como os dados não apresentaram uma distribuição normal, bem como diferentes variâncias, o teste não-paramétrico de Mann-Whitney (*Mann-Whitney Rank Sum Test*) foi aplicado. Para cada critério realizou-se a comparação entre os dois intervalos de tempos fixando-se o material (7 e 70 dias) e a comparação entre materiais fixando-se o tempo (HC X MTA).

6 RESULTADOS

6.1 Análise morfológica descritiva

6.1.1 Análise morfológica descritiva aos 7 dias

Hidróxido de Cálcio:

Na maioria dos espécimens (7 de 8 espécimens) observou-se a presença de infiltrado inflamatório na câmara pulpar, o qual foi predominantemente polimorfonuclear no sítio da exposição, em meio à necrose superficial do tecido pulpar desta área, variando em intensidade de discreta a moderada (Figs. 12A a 12C, 12F e 12H). Também foi observada variação entre a extensão do infiltrado inflamatório no tecido pulpar, pois em alguns espécimens o mesmo distribuía-se por toda a polpa coronária, atingindo também o terço cervical da polpa radicular, sendo, quanto mais distante da exposição pulpar, predominantemente mononuclear. Em outros espécimens a inflamação distribuía-se em áreas focais, tanto na polpa coronária (Figs. 12A a 12C, 12F e 12H) quanto radicular.

Edema, vasodilatação, hiperemia, neovascularização e áreas de hemorragia foram achados freqüentemente visualizados na polpa coronária, acompanhando a infiltração inflamatória descrita. Perda tecidual localizada foi encontrada em praticamente todos os espécimens, restringindo-se ao sítio da exposição e sendo comumente notada faixa de necrose superficial, a qual variava de estreita a moderada. Em poucos espécimens observou-se, em áreas focais, por vezes adjacentes à parede lateral da cavidade, a presença de fragmentos de dentina e de material capeador em meio ao tecido pulpar coronário, os quais pareciam induzir a deposição de matriz dentinária e a diferenciação odontoblástica ao seu redor (Figs. 12E a 12G). Estes fragmentos dentinários eventualmente estavam acompanhados de infiltração inflamatória circundante, sendo em um espécimen também observadas células gigantes multinucleadas fagocitando este material.

A formação de dentina terciária, neste intervalo de tempo, constituiu achado eventual (Figs. 12A a 12C e 12E a 12G), sendo notados em apenas dois espécimens, primórdios de sua deposição, em continuidade com a discreta dentina reacional vista nas paredes laterais da exposição.

MTA:

Na maioria dos espécimens analisados (9 de 13 espécimens) não foi observada infiltração inflamatória ou a mesma foi escassa e predominantemente constituída por células polimorfonucleares (Figs. 13A a 13D e 13G a 13H). Nestes casos sem inflamação, o tecido pulpar demonstrou perda tecidual mínima, a qual se restringia ao sítio da exposição, sendo observada preservação da sua integridade (Fig. 13D). Quando a infiltração inflamatória polimorfonuclear (13E e 13F) esteve presente, a mesma revelou graus variáveis de intensidade, estando associada à existência de extensas áreas necróticas comprometendo o tecido pulpar coronário. Nestas situações, foram observadas ainda vasodilatação, edema, hiperemia e focos de hemorragia.

Quanto à formação de dentina reparativa e reacional foi possível verificar que em mais da metade dos espécimens (7 de 13 espécimens) foi observada formação de barreira dentinária, a qual ora depositava-se em áreas focais, ora era demonstrada como deposição descontínua, porém uniforme e homogênea, nas duas situações sob a forma de osteodentina, sendo notadas células odontoblastóides alinhadas perifericamente à matriz dentinária (Figs. 13A a 13B e 13G a 13H). A dentina reacional também esteve presente, sendo ora depositada focalmente e de maneira discreta, ora demonstrando deposição mais intensa e contínua à dentina reparativa (Figs. 13A a 13B e 13G a 13H). No restante dos espécimens não foi observado dentina terciária (Figs. 13D a 13F).

6.1.2 Análise morfológica descritiva aos 70 dias

Hidróxido de Cálcio:

Em quase todos os casos (5 de 6 espécimens) a inflamação esteve ausente no tecido pulpar, sendo, quando presente, escassa a sua expressão. Observou-se ainda retração do tecido pulpar na área da exposição, em alguns casos ainda com a permanência da zona superficial necrótica e também com eventuais angiogênese, vasodilatação e hiperemia.

A totalidade das amostras exibiu deposição de dentina reparativa, a qual estendia-se a toda polpa coronária (Figs. 14A a 14D), sendo em alguns casos também presente na porção cervical da polpa radicular. Esta dentina reparativa, exibiu padrão morfológico misto, sendo depositada como osteodentina e como dentina tubular, com a presença de canalículos irregulares e tortuosos (Fig. 14D). A dentina reparativa demonstrou, com freqüência, continuidade com a dentina reacional. A primeira, associada à intensa celularidade do tecido pulpar circunjacente e à existência de várias células odontoblastóides alinhadas sob a mesma. Defeitos tipo túnel foram também presentes nessas amostras (Figs. 14A a 14C).

MTA:

Infiltração inflamatória esteve ausente no tecido pulpar em todos os casos examinados. A perda tecidual pulpar notada limitou-se à porção coronária dos espécimens. Completando o quadro histológico, no que diz respeito à organização tecidual, foram também notadas áreas de vasodilatação, hiperemia e focos de hemorragia (Figs. 14E a 14H).

A formação de dentina reparativa (osteodentina e dentina tubular) foi verificada em todos os casos, freqüentemente obliterando a polpa coronária, especialmente no sentido vestibulo-lingual e estando em continuidade com a dentina reacional (Figs. 14E a 14H). Esta última também presente em todos os espécimens. Em alguns casos, entretanto, a barreira dentinária era depositada de maneira descontínua ou em sítios focais, formando eventualmente túneis, com a presença de tecido de necrótico superficial de permeio a eles.

FIGURA 12 (A-H) - HC - 7 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

Fig. 12A - Polpa coronária capeada com HC, demonstrando a área da exposição, que exibe infiltração inflamatória polimorfonuclear focal e superficialmente situada (seta), vizinha a um foco de barreira dentinária em fase inicial de formação (cabeça de seta). Hiperemia é também notável. (HE, 40X).

Fig. 12B – Melhor visualização dos aspectos apontados em 11A. (HE, 100X).

Fig 12C – Em evidência, detalhes da barreira dentinária, demonstrada nas figuras anteriores, com fibrodentina apresentando alinhamento de células odontoblastóides (seta) e área de inflamação aguda superficial, presente no sítio da exposição. (HE, 200X).

Fig. 12D – Mesmo espécimen do caso das figuras anteriores, mostrando a polpa radicular. Observe a ausência de infiltração inflamatória nesta localização. (HE, 40X).

Fig 12E – Espécimen capeado com HC, sendo observados fragmentos de dentina (setas) em meio ao tecido pulpar coronário (corte no sentido vestibulo-lingual). É também visualizada dentina reacional contínua a outro foco de matriz dentinária (cabeça de seta). (HE, 40X).

Fig 12F – Mesmo espécimen anterior, em secção da coroa no sentido inciso-cervical, mostrando área de infiltração inflamatória polimorfonuclear no sítio da exposição (seta). (HE, 40X).

Fig. 12G – Em destaque, área de indução da formação de matriz dentinária em calcificação, sendo notado o alinhamento de algumas células odontoblastóides ao seu redor (setas). (HE, 200X).

Fig. 12H – Espécimen com capeamento pulpar direto feito com HC, apresentando área de necrose superficial e intensa infiltração inflamatória polimorfonuclear presente na polpa coronária - sítio da exposição. (HE, 100X).

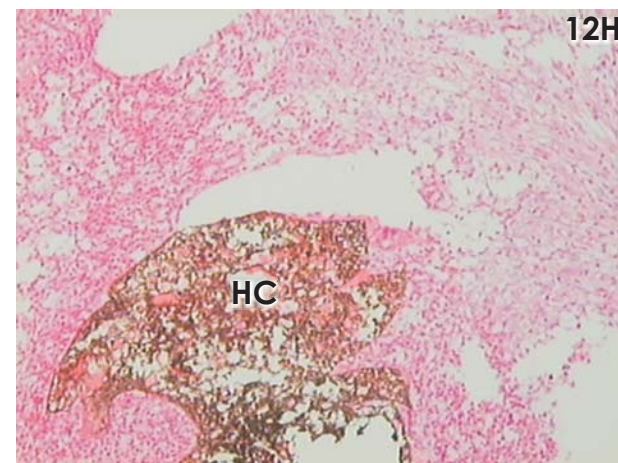
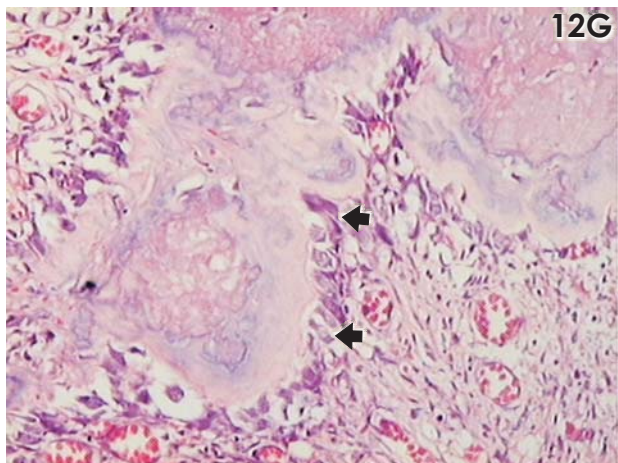
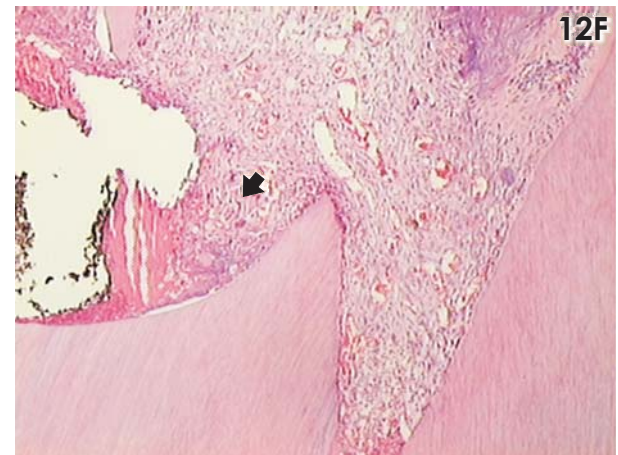
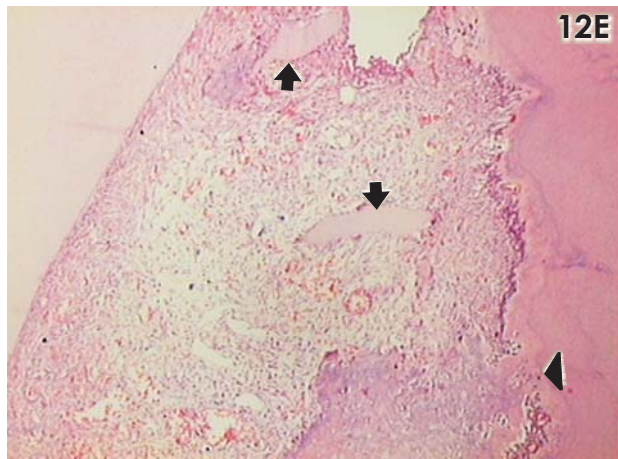
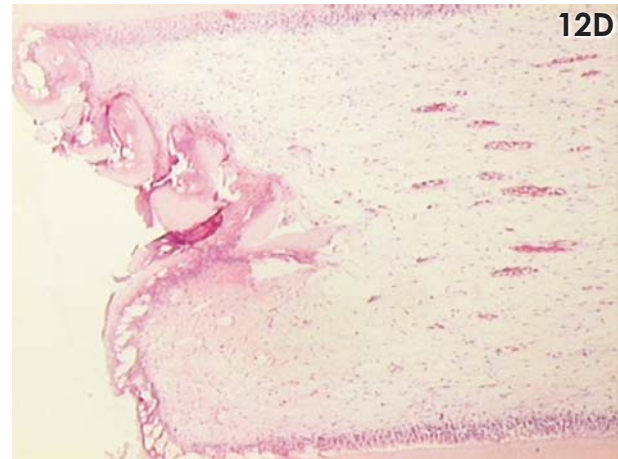
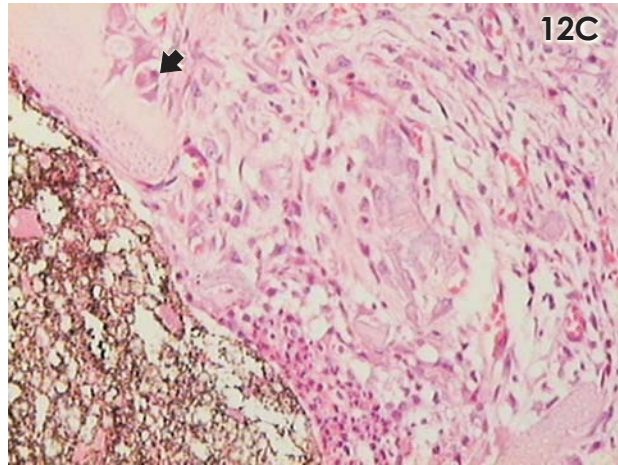
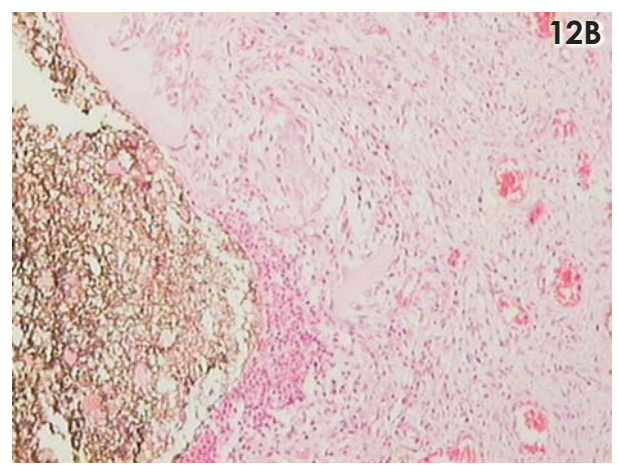
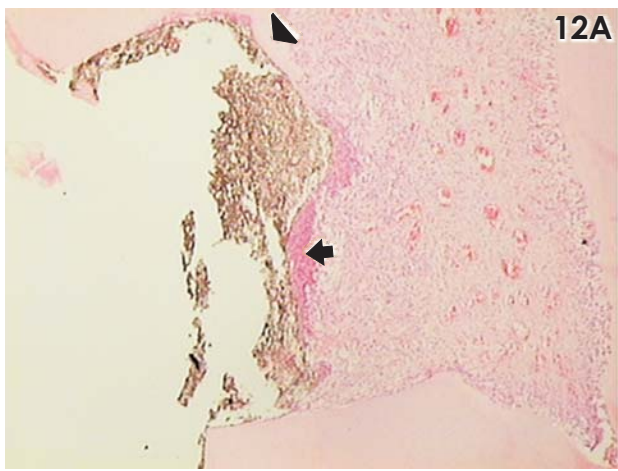


FIGURA 13 (A-H) - MTA - 7 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

Figura 13A – Polpa coronária capeada com MTA, demonstrando ausência de infiltrado inflamatório e barreira dentinária em estágio inicial de formação, a qual é subjacente à estreita faixa superficial de necrose, no sítio da exposição pulpar. Vasodilatação e hiperemia são achados também notáveis. (HE, 40X).

Figura 13B – Maior aumento da área focal de dentina reparativa (*), contínua à dentina reacional (R). (HE, 200X).

Figura 13C – Mesmo espécimen de 12A e 12B, visto em secção da coroa no sentido inciso-cervical. (HE, 40X).

Figura 13D – Capeamento pulpar direto feito com MTA. Observa-se polpa coronária íntegra, sem nenhum sinal de inflamação ou necrose superficial na área da exposição. Perda tecidual é mínima. (HE, 40X).

Figura 13E – Espécimen capeado com MTA, sendo observada vasodilatação e infiltração inflamatória polimorfonuclear na polpa coronária, com perda parcial do tecido pulpar neste sítio. (HE, 40X).

Figura 13F – Maior aumento de 12E, com destaque para o infiltrado inflamatório da polpa coronária, nas proximidades da área da exposição pulpar. (HE, 200X).

Figura 13G – Polpa coronária de dente suíno capeado com MTA (M), apresentando hemorragia, vasodilatação e, em área focal, deposição inicial de dentina reparativa (seta). (HE, 40X).

Figura 13H – Ampliação de 12G, na área da barreira dentinária, ressaltando o alinhamento das células odontoblastóides sob a mesma (seta), e a sua continuidade com a dentina reacional (R) também presente. (HE, 200X).

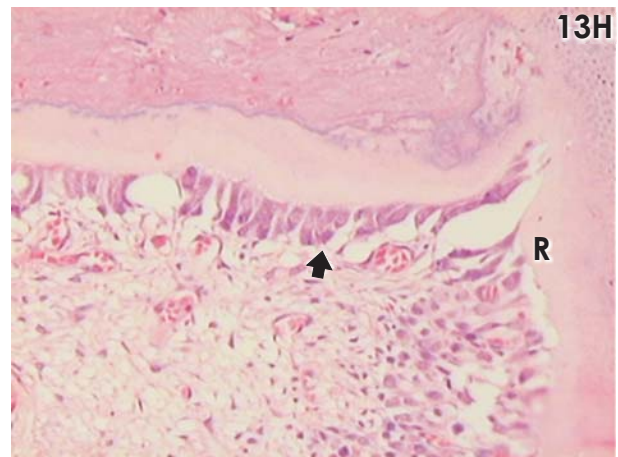
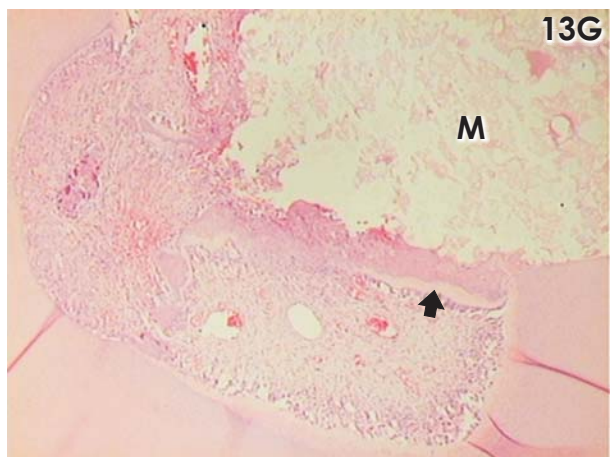
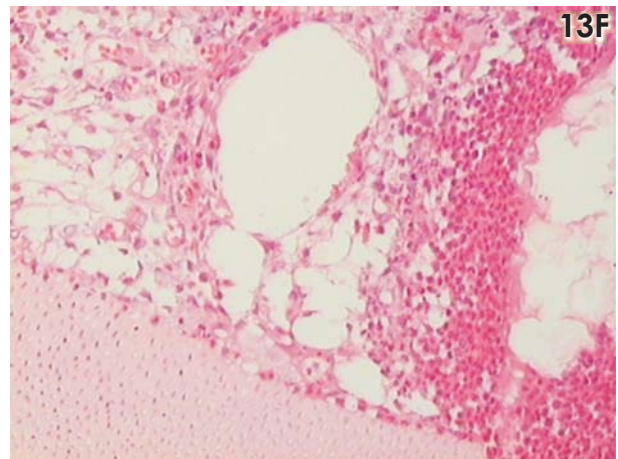
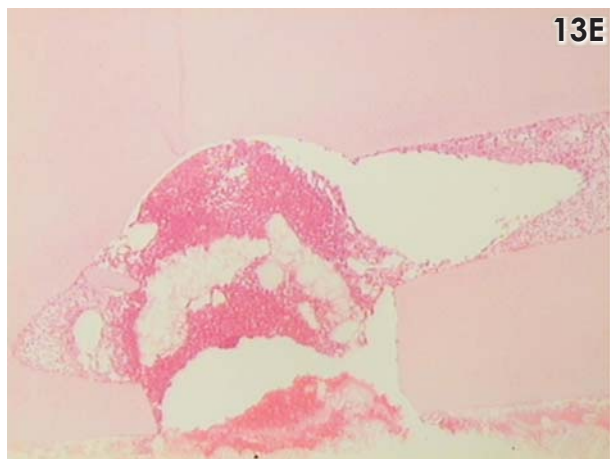
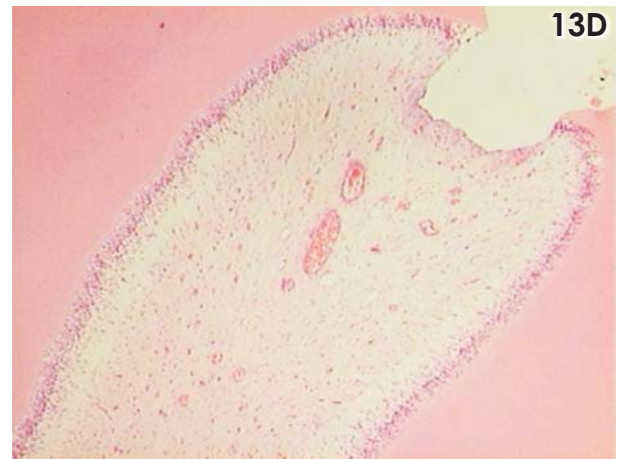
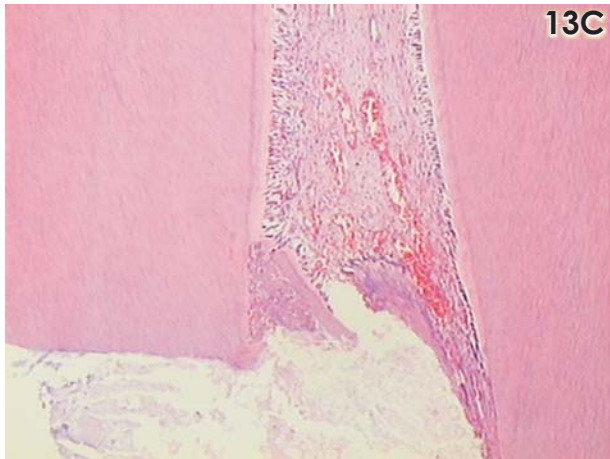
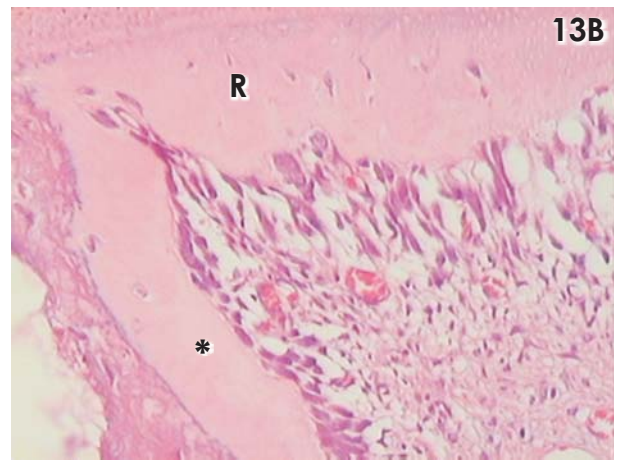
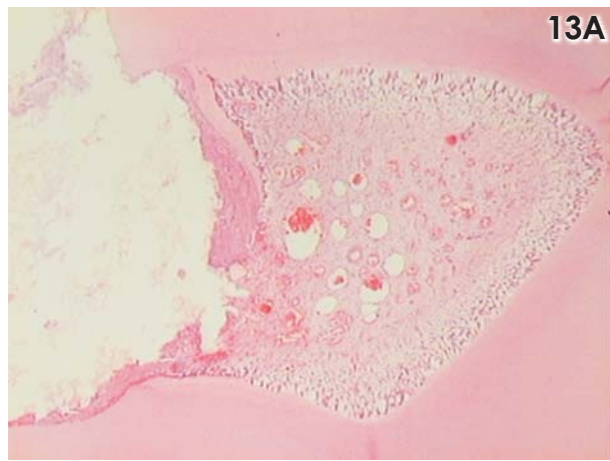


FIGURA 14
(A-D) - HC - 70 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO
(E-H) - MTA - 70 DIAS DE PÓS-OPERATÓRIO

Figura 14A – Dente suíno capeado com HC, demonstrando dentina reparativa obliterando quase totalmente a polpa coronária (corte no sentido vestibulo-lingual), sendo também observado tecido pulpar remanescente. (HE, 40X).

Figura 14B – Maior aumento de 13A, com destaque para a dentina reparativa. (HE, 100X).

Figura 14C – Capeamento pulpar feito com HC, exibindo obliteração total da polpa coronária (secção vestibulo-lingual) por dentina reparativa. (HE, 40X).

Figura 14D – Dentina reparativa em destaque, sendo observadas áreas de osteodentina (*) e dentina tubular (seta). (HE, 200X).

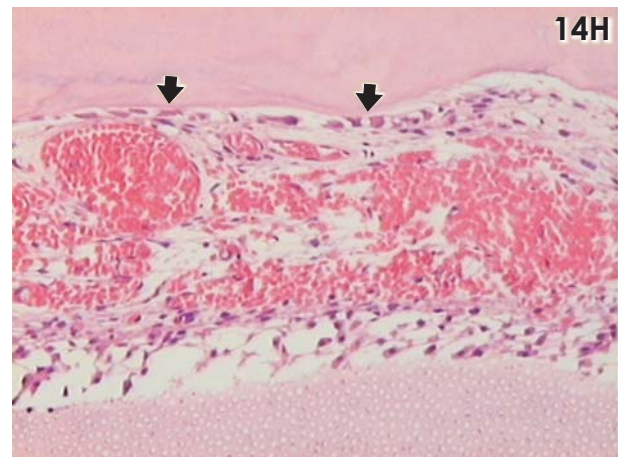
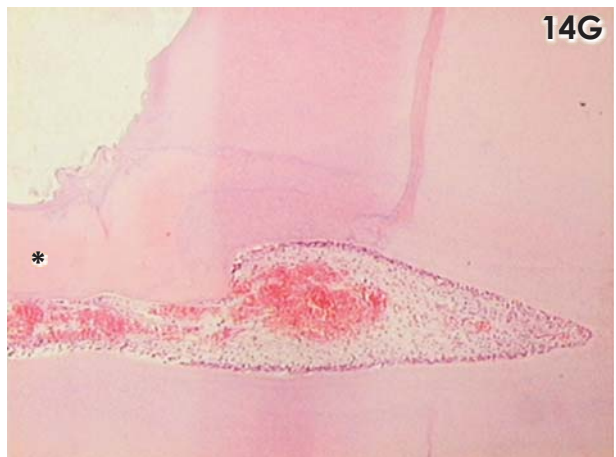
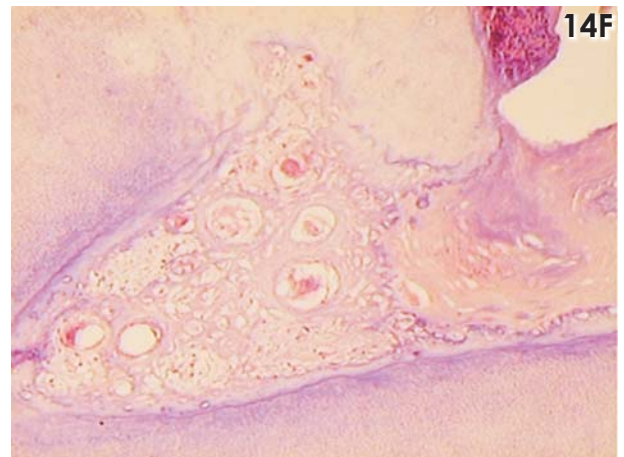
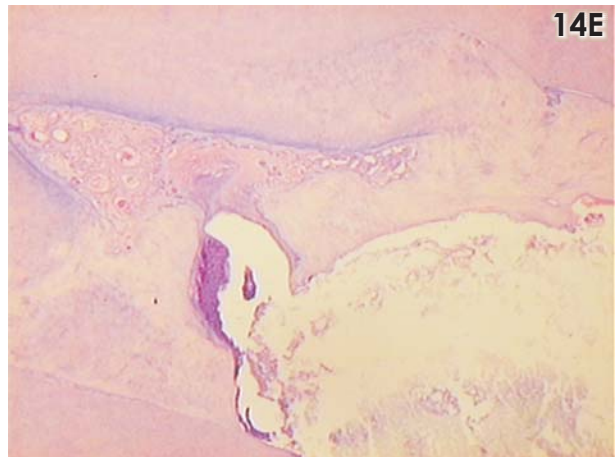
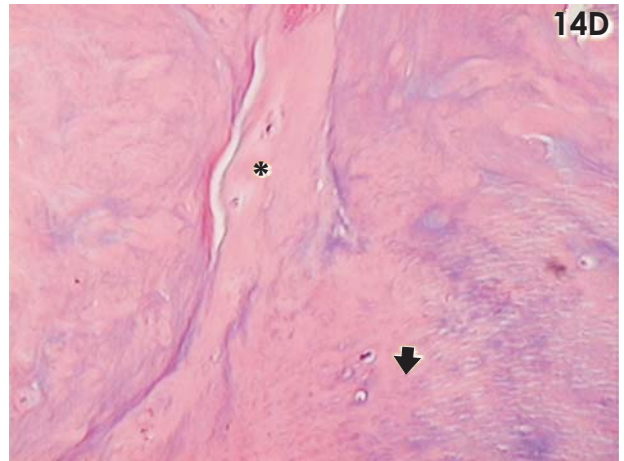
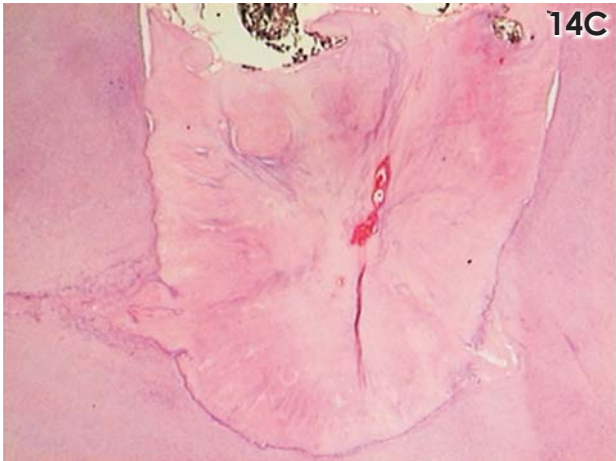
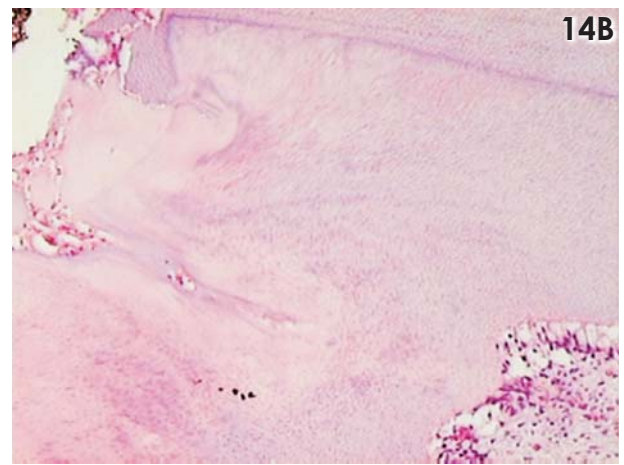
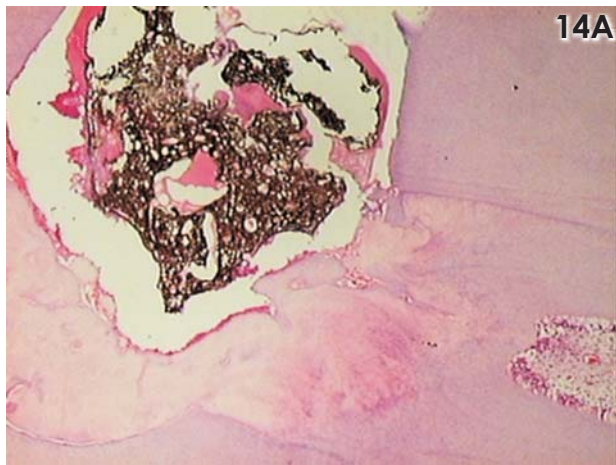
Figuras 14E – 14H- MTA, 70 dias de pós-operatório

Figura 14E – Polpa coronária de dente suíno capeado com MTA, notando-se marcante deposição de dentina reparativa, a qual preenche grande parte de sua extensão no sentido vestibulo-lingual. O tecido pulpar remanescente exibe vasodilatação e congestão vascular. (HE, 40X).

Figura 14F – Maior aumento de 13E. (HE, 100X).

Figura 14G – Observa-se polpa coronária capeada com MTA, apresentando deposição de dentina reparativa na área da exposição pulpar (*). Foco hemorrágico e vasocongestão são também notáveis. (HE, 40X).

Figura 14H – Maior aumento de área de interface da barreira dentinária com o tecido pulpar, com destaque para o alinhamento de células odontoblastóides (setas). Observa-se também a vasocongestão evidenciada na polpa coronária. (HE, 200X).



6.2 Análise da contaminação bacteriana através da técnica histoquímica de Brown e Hopps

Não foi detectada a presença de microrganismos em nenhum dos espécimes avaliados conforme a técnica empregada no estudo.

6.3 Resultados da análise estatística

Os resultados de acordo com critérios e escores pré-estabelecidos para todos os grupos (Apêndice), mostraram que houve para o critério resposta inflamatória avaliada em diferentes intervalos de tempo uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos em que o HC foi aplicado sendo o maior nível de inflamação encontrado no período de 7 dias ($p=0,043$) entretanto para o MTA não foi detectada diferença estatisticamente significativa entre os dois tempos.

Quando os dois grupos de materiais do intervalo de sete dias foram comparados o grupo HC_7d demonstrou quantidade de infiltrado inflamatório estatisticamente maior que o grupo MTA_7d ($p=0,042$)

Para o critério formação de dentina reparativa ambos os materiais demonstraram aumento da formação de dentina reparativa com o tempo, HC_7d < HC_70d ($p<0,001$) e MTA_7d < MTA_70d ($p=0,004$). Os dois materiais demonstraram formação de dentina reparativa semelhante quando comparados para o mesmo intervalo de tempo.

Não foram detectadas diferenças significantes entre os grupos quando os critérios organização tecidual e formação de dentina reacional foram avaliados.

7 DISCUSSÃO

Foi utilizado neste estudo um método de aleatorização no momento de obtenção dos cortes para análise histopatológica. Esse procedimento teve como objetivo, reduzir a subjetividade favorecendo a inclusão de cortes representativos ao longo da área de exposição pulpar. Outro procedimento adotado como complemento à análise morfológica descritiva foi a utilização de escores atribuídos aos critérios propostos de organização tecidual, inflamação, dentina reparativa e reacional. Esses critérios são também recomendados pela ISO 7405:1997.

A classificação dos cortes obtidos permitiu a realização de estatística não paramétrica. Esse tipo de estatística caracteriza-se por ser conservadora em relação a apontar diferenças significantes entre os grupos. No entanto, quando diferenças estatísticas são obtidas com testes não-paramétricos pode-se esperar que esse tipo de resultado se mantenha para situações onde há maior número de repetições ou que o método de mensuração favoreça a utilização de estatística paramétrica. Por outro lado a ausência de diferença estatisticamente significativa, pelas próprias limitações do número de repetições e do tipo de teste estatístico, não deve ser sobrevalorizada em detrimento de observações de análise morfológica descritiva demonstrada nas imagens.

De acordo com os resultados encontrados foi possível verificar que aos sete dias, apenas um espécimen (12,5%) capeado com cimento contendo HC não apresentou infiltrado inflamatório presente na câmara pulpar, os demais cortes apresentaram inflamação discreta à moderada. Neste mesmo intervalo de tempo, nove espécimens (69,2%) de MTA tiveram ausência de inflamação e os restantes variando de inflamação discreta a severa. Adicionalmente essa diferença entre os materiais em estágio inicial do reparo foi estatisticamente significativa, reforçando assim os resultados histológicos.

Quando há o contato do HC com o tecido pulpar, uma cauterização superficial é acarretada determinando uma zona de necrose (HOLLAND, 1971), já

com o MTA praticamente não ocorre formação da zona de necrose superficial. No entanto, quando ela estiver presente é bem mais delgada que a observada com o HC quimicamente puro, o que sugere pouca penetração dos íons hidroxila (HOLLAND et al., 2001; BERNABÉ; HOLLAND, 2003).

A zona mumificada (zona de necrose) estimula o tecido pulpar vital subjacente a responder com todo o seu potencial de reparo para produzir uma barreira de dentina. A sequência do reparo tecidual começa com alterações vasculares, migração e aumento localizado de células inflamatórias para controlar e eliminar o agente agressor (STANLEY, 1998).

Apesar de a presença de inflamação leve a moderada em estágio inicial do reparo fazer parte do processo, é desejável que seja controlada e restrita aos estágios iniciais de reparo. É a partir desta inflamação que se inicia o processo de remoção do tecido necrótico, o qual proporciona condições locais para que o processo de reparo seja bem sucedido (FITZGERALD, 1979; SCHRÖDER, 1985).

Como no presente estudo foram utilizados dentes suínos hígidos cria-se uma situação favorável em que a polpa pode responder com todo seu potencial de reparo, pois a agressão mais expressiva acaba sendo a ação da broca no local de exposição, entretanto em grande parte de situações clínicas em que o tratamento conservador da polpa é realizado já existe um comprometimento pulpar provocado por progressão de lesão cariosa, presença de trauma entre outros fatores. Para essa última situação teoricamente um material que possui capacidade biológica semelhante ao HC em estimular o reparo produzindo uma resposta mais leve e controlada poderia acarretar um estímulo mais compatível com a capacidade de resposta de polpas parcialmente comprometidas.

Ao final dos setenta dias o processo inflamatório foi reduzido nos dois materiais. Como não foi detectada necrose pulpar total em nosso estudo e todos os espécimes deste intervalo demonstraram nível avançado de dentinogênese terciária, subentende-se que a inflamação inicial foi compatível com o padrão de resposta pulpar e que de certo modo esteve presente no processo de reparo. A redução de presença de infiltrado inflamatório aos setenta dias quando comparado aos 7 dias,

também foi uma evidência que se demonstrou estatisticamente significativa para os grupos em que o cimento contendo HC foi utilizado.

Embora neste estudo tenha sido usado um cimento de HC, que segundo Stanley (1989, 1998) apresenta pH entre 9-10, houve uma agressão maior ao tecido pulpar quando do uso deste material comparado ao MTA, que apresenta pH ao redor de 12,5 (TORABINEJAD et al., 1995b; ISLAM; CHNG; YAP, 2006), o que poderia levar a uma resposta inflamatória mais intensa da polpa, indicando uma maior liberação de íons hidroxila por parte do HC e conseqüente maior camada de necrose superficial (BERNABÉ; HOLLAND, 2003). Além do pH, outros fatores necessitam ser melhor investigados em relação a resposta pulpar obtida frente a aplicação desses materiais.

Além dos efeitos danosos do material capeador ao tecido pulpar, outras agressões podem estar associadas com o grau de inflamação pulpar. As injúrias mais conhecidas são: o trauma mecânico da exposição, material colocado junto de polpa sangrante, contaminação bacteriana e presença de raspas dentina (TZIAFAS, 1994).

Não foi detectada a presença de bactérias nos espécimens pela técnica de coloração empregada. A presença de bactérias poderia representar um viés sobre o grau de inflamação de tecido pulpar em estágio de reparo, justificando sua realização nesse tipo de estudo.

Entretanto, é importante considerar que as técnicas utilizadas para identificação de bactérias são extremamente sensíveis aos demais procedimentos utilizados durante o processamento da amostra (STANLEY, 1998). Os próprios procedimentos de fixação e descalcificação histológicos podem reduzir o número de bactérias presentes (WIJNBERGEN; VAN MULLEM, 1991; HEBLING; GIRO; COSTA, 1999), ou ainda elas podem aderir-se à restauração que é removida durante o processo (BRÄNNSTRÖM; NORDENVALD, 1977). Além disso, outra desvantagem das técnicas para corar bactérias é a falta de informação sobre a espécie, patogenicidade e viabilidade dos microrganismos presentes (HEBLING; GIRO; COSTA, 1999).

Outra observação a ser destacada foi a presença de raspas de dentina em alguns cortes histológicos de HC no intervalo de 7 dias. Em alguns locais as raspas

de dentina no interior do tecido pulpar pareciam estar induzindo a deposição dentinária e a diferenciação de células odontoblastóides ao seu redor. Já em outros locais estes fragmentos dentinários eventualmente estavam circundados por áreas de infiltrado inflamatório, sendo inclusive observadas células gigantes multinucleadas fagocitando esse substrato dentinário.

A presença de raspas de dentina forçadas acidentalmente para o interior do tecido pulpar gera controvérsias na literatura, em relação ao reparo (STANLEY, 1989). A existência desses fragmentos no interior da polpa pode levar formação de pulpíte difusa e até mesmo de abscesso. A deposição de osteodentina que ocorre sobre tais fragmentos dentinários forma massas calcificadas, como cálculos pulpares, que podem se unir e formar barreiras defeituosas (KALNINS; FRISBIE, 1960; HOLLAND et al., 1979).

Por outro lado, se as raspas estiverem limitadas à superfície da exposição, elas poderiam estimular a formação de dentina reparativa, sendo um componente ativo do reparo pulpar (STANLEY, 1989).

De acordo com a metodologia realizada, foi empregado o capeamento direto sobre a polpa exposta. Outra opção factível seria a realização de pulpotomia, entretanto o capeamento pulpar direto pareceu ser a escolha mais viável principalmente pelas particularidades de acesso de um preparo cavitário classe V. Outrossim sempre tratamentos mais conservadores são preferíveis e mais fácil de executar quando a situação clínica proporcionar a indicação segura.

O tamanho da exposição parece ser o fator menos importante no reparo pulpar (STANLEY, 1989, 1998). Basicamente pulpotomia é um procedimento de capeamento pulpar direto, de tamanho maior, sendo a técnica do procedimento e a habilidade do operador aspectos mais relevantes.

Os eventos de reparo pulpar podem ser influenciados também por fatores como a força de aplicação e impactação de partículas do material para o interior da polpa, tamanho da área de exposição pulpar, que precisa ser aberta o suficiente para permitir o contato do agente capeador com o tecido vital (STANLEY, 1989, 1998; MURRAY et al., 2000). Neste estudo estas variáveis foram minimizadas através da padronização da exposição, cuidados com a pressão de colocação do material no

sítio de exposição, realização de preparo e exposição com o mínimo de danos ao tecido pulpar e obtenção de hemostasia previamente aos procedimentos capeadores. Mesmo assim foram encontradas, aos 7 dias, espécimens com impactação de HC que apresentavam infiltrado inflamatório.

Aos 70 dias houve deposição de dentina reparativa em todas as amostras de HC e MTA, demonstrando continuidade com a dentina reacional não sendo encontrada diferença significativa entre os dois materiais. Sendo que para ambos os materiais a dentina reparativa analisada aos 70 dias foi vista como osteodentina em sua porção mais cervical e no sentido apical exibindo padrão tubular, o que está de acordo com Holland et al. (1979), Schöreder (1985) e Yoshida, Yoshida e Iwaku (1994) que relataram que após 2, 3 meses a nova barreira formada é composta de 2 camadas: uma mais coronal com inclusões celulares semelhantes ao tecido ósseo, chamada osteodentina e outra mais interna com tecido tubular semelhante à dentina, conhecida como dentina tubular, caracterizada por estar em íntimo contato com células alongadas semelhantes aos odontoblastos, indicando esta última maturação da dentina e recuperação da arquitetura pulpar

A presença de infiltrado inflamatório neste intervalo de tempo não foi significativa, sendo observada de forma moderada em apenas uma amostra de HC e a perda tecidual limitou-se à área de exposição. Estes achados morfológicos no período de 70 dias vêm ao encontro dos resultados encontrados por Stanley e Lund (1972), Demarco et al. (2001), Queiroz et al. (2005) e Koliniotou-Koumpia e Tziafas (2005) em relação ao HC. Bem como os resultados encontrados com o MTA nos dois períodos pós-operatórios deste estudo concordam com os de outras pesquisas que envolvem o MTA (FARACO Jr; HOLLAND, 2001; TZIAFAS et al., 2002; SALAKO et al., 2003; QUEIROZ et al., 2005; PARIROKH et al., 2005).

Alguns aspectos histopatológicos que merecem destaque é a presença de vasodilatação, hiperemia e focos de hemorragia em alguns espécimens dos dois materiais, não só no período de 7 dias mas também no de 70 dias. Possivelmente existe alguma relação com o fato de que o terço coronário da polpa decídua humana é a região mais intensamente vascularizada. Esta vascularização concentra-se particularmente na zona central da polpa coronária, caracterizando-se por vasos

menos calibrosos, enquanto que na polpa radicular a vascularização apresenta vasos com maior calibre mas em número menor (FOX; HEELEY, 1980).

Foi possível verificar neste estudo que as barreiras dentinárias aos 70 dias, independente do material capeador utilizado, foram na maioria dos espécimens formadas em toda a extensão vestibulo-lingual da polpa de modo a delimitar a polpa em duas regiões completamente distintas: uma superior (incisal) e outra inferior (cervical). Essa delimitação pode acarretar risco de necrose na porção incisal, pois aporte sanguíneo fica comprometido. Este achado está de acordo com (STANLEY, 1998) especialmente nos casos de classe V.

A formação de barreira dentinária é um dos principais indicadores de sucesso em capeamento pulpar direto e pulpotomia. Um fator importante a ser salientado em relação a formação de barreira é quanto à capacidade de resposta pulpar perante uma agressão que pode diferir entre as espécies (COSTA; HEBLING; HANKS, 2000; SMITH, 2002; MITSIDIS; RAHIOTIS, 2004).

Foi possível observar, aos 70 dias, a presença de defeitos tipo túnel na barreira dentinária quando HC e MTA foram empregados. Um dos fatores que pode influenciar o aparecimento desses defeitos é o grau de trauma criado à polpa no momento da exposição mecânica (STANLEY, 1998). Segundo Stanley e Pameijer (1997) o número e tamanho de vasos injuriados inicialmente como resultado da técnica de exposição é que determina o número de túneis desenvolvidos durante o reparo. Além disso, sabe-se que o MTA e o HC atuam eficazmente quando em contato com o tecido pulpar determinando precipitação de granulações de calcita, junto às quais ocorre condensação de fibronectina, permitindo adesão, diferenciação celular e neoformação de dentina.

Porém, esses eventos não se estabelecem quando o material entra em contato com um vaso sanguíneo, uma vez que, neste local não existem elementos celulares os quais dão origem às células odontoblastóides. Desta maneira, ocorre a formação de espaços conhecidos como defeito tipo túnel (STANLEY; PAMEIJER, 1997). Stanley (1998) enfatiza que mesmo com a presença de defeitos presentes nas barreiras, estes são preferíveis a não formação das mesmas, uma vez que neste caso, a polpa ficaria completamente desprotegida.

Retomando a importância da formação da barreira dentinária no estabelecimento do reparo pulpar, ficou claramente demonstrada a tendência do MTA em iniciá-lo mais rapidamente, ao compararmos os resultados deste material com os do HC para este parâmetro, uma vez que com uma semana de pós-operatório, sete dos espécimens do MTA já exibiam primórdios da formação de dentina reparativa e apenas dois casos de HC revelaram tal formação.

Há que se ressaltar a capacidade do MTA em manter a integridade pulpar assim como estimular, a formação de barreira dentinária (TZIAFAS et al., 2002; SALAKO et al., 2003; QUEIROZ et al., 2005; PARIROKH et al., 2005), talvez de maneira menos agressiva, já que a resposta inflamatória a este agente capeador foi escassa mesmo aos 7 dias

Graham et al. (2006) demonstraram que fatores de crescimento e outras moléculas bioativas, seqüestradas dentro da matriz dentinária, poderiam ser liberados pela ação do HC e sinalizar a expressão gênica em células pulpares, mediando as mudanças no comportamento celular observadas durante a regeneração da dentina e consequentemente formação de barreira dentinária.

Quanto ao mecanismo de ação do MTA, ele é similar ao do HC, porque em estudo sobre as propriedades físicas e químicas do MTA, Torabinejad et. al (1995b) observaram que todo o MTA era dividido em duas fases específicas, constituídas pelo óxido de cálcio e fosfato de cálcio. O óxido de cálcio associado à água forma o HC. Desta maneira estaria explicado teoricamente a similaridade do MTA com o HC (HOLLAND et al., 2002).

Um assunto que merece destaque diz respeito ao uso de dentes decíduos animais para testes pulpares. A especificação ISO 7405:1997 recomenda que os dentes animais usados sejam dentes permanentes e com apicogênese completa. No presente estudo foram utilizados dentes decíduos suínos com os ápices completamente formados.

Em humanos o desenvolvimento e a estrutura histológica da polpa dos dentes decíduos são similares aos dos dentes permanentes, o desenvolvimento e formação da polpa do dente decíduo são semelhantes ao do dente permanente quer quanto ao aparecimento dos elementos pulpares quer quanto á aposição de dentina

(FOX; HEELEY, 1980). As alterações pulpareas mais significativas nos dentes decíduos estão relacionadas aos estágios mais avançados de reabsorção, na fase final da rizólise, próximo da esfoliação (RUSCHEL; FOSSATI, 2005).

Sari, Aras e Gunhan (1999) demonstraram que não há diferença entre os potenciais de reparo pulpar de dentes decíduos e permanentes. Diante da análise histológica realizada após capeamento pulpar direto com HC em caninos decíduos com até um terço ou com metade a dois terços de reabsorção, eles observaram formação de barreira em todos os dentes que exibiram tecido pulpar adjacente vital.

Reforçando esta afirmativa, a literatura recente tem demonstrado que as células-tronco, presentes tanto no tecido pulpar de dentes decíduos (MIURA et al., 2003) quanto de dentes permanentes (GRONTHOS et al., 2000), estão aptas a produzir uma linhagem de odontoblastóides e formar dentina em resposta à presença de BMPs (IOHARA et al., 2004; NAKASHIMA; AKAMINE, 2005), podendo, inclusive, diferenciarem-se em outras linhagens celulares (GRONTHOS et al., 2002)

Além disso, células pulpareas obtidas de pré-molares de suínos tem sido utilizadas em estudos *in vitro* e adequadamente estimuladas pela BMP2, podem ser capazes de diferenciarem-se em odontoblastos (IOHARA et al., 2004).

Alguns autores têm utilizado o modelo suíno, estudando o metabolismo da polpa nas diferentes fases de reabsorção, tendo observado que esses dentes com rizólise são plenamente capazes de iniciar os processos de reparo, quando estimulados (PAIVA-NOVAES; FERREIRA; NICOLAU, 1989).

Importante ressaltar que os dentes utilizados no presente estudo possuíam ápice completo e sem evidências de início de reabsorção. Assim pode-se contar com um período funcional longo da primeira dentição em boca, podendo tais dentes ser submetidos a procedimentos operatórios bem antes que os mesmos apresentem sinais do processo de rizólise.

Em dentes de ratos, animais que apresentam uma única dentição, pesquisadores como Cortes, Garcia e Bernabé (2000), Salako et al. (2003), Sabir et al. (2005), Dammaschke et al. (2006) realizaram suas pesquisas testando terapias utilizadas clinicamente para ambas as dentições.

Também Ranly e Garcia-Godoy (2000) pesquisando a respeito de terapias pulpares em dentes decíduos e permanentes comentaram que no futuro com o avanço das ciências biológicas e de materiais o tratamento de polpa de dentes decíduos e permanentes será feito da mesma maneira, e já citam como exemplo, os excelentes resultados de estudos desenvolvidos com fatores de crescimento, como as BMPs, usadas tanto para pulpotomia em decíduos como em permanentes.

No presente estudo foram utilizados animais oriundos de cruzamento de raças industriais, as quais encontram-se disponíveis em granjas e colégios agrícolas, onde são criados com objetivos comerciais, e também em biotérios, onde são utilizados principalmente para fins de pesquisa científica. Diante da disponibilidade regional no Sul do Brasil, cria-se uma facilidade de obtenção de animais e insumos, tornando esse modelo animal de excelente viabilidade econômica para pesquisas científicas.

Animais como macacos, furões ou *minipigs*, que são algumas das espécies preconizadas pela ISO 7405:1997 para testes de capeamento pulpar, são de difícil disponibilidade, pois não são animais encontrados facilmente em biotérios, necessitam de mão de obra especializada e muitas vezes precisam ser importados (JUNQUEIRA; UBATUBA, 2005). Estudos em *minipigs* sempre traziam este tipo de dificuldade, pois apenas recentemente foram desenvolvidos *minipigs* brasileiros (MARIANO, 2003) sendo talvez por isto explicada a escassez de estudos desenvolvidos no Brasil.

No tocante aos custos gerados ao alojamento e manutenção, o modelo suíno proposto pelo presente estudo requer um baixo custo. As baias onde ficam alojados não necessitam de grande sofisticação. Mas é importante e necessário um rigoroso esquema de higienização na criação desses animais (ROPPE, 2006). A alimentação é feita por ração balanceada adequada à fase de crescimento, facilmente encontrada em comércio especializado ou mesmo elaborada no próprio local e é de preço acessível.

A grande similaridade do suíno com os humanos em relação à anatomia e fisiologia, é amplamente documentada na literatura (POUND; HOUT, 1978; MALAVASI; NYMAN, 2004; PEREIRA-SAMPAIO; FAVORITO; SAMPAIO, 2004).

Essas semelhanças podem ser consideradas como uma vantagem quando comparadas a outros modelos animais como o cão, rato, camundongo e outras espécies utilizadas em experimentação que apresentam uma menor semelhança à fisiologia do homem (WEAVER; SORENSON; JUMP, 1962; MARIANO, 2003).

Sobre a disponibilidade de estudos utilizando modelos animais, Fagundes e Taha (2004) realizaram um levantamento nas bases de dados Medline, Lilacs, SciELO e Biblioteca Cochrane. Na base de dados Lilacs e Scielo, no período de 1998-2002 foram encontrados uma maior quantidade de estudos utilizando cães do que coelhos, suínos e primatas. O fato mostra que na América Latina o cão ainda é um animal muito usado, talvez pela facilidade de obtenção. Entretanto deve ser considerado que nem sempre esses animais estão disponíveis em canis municipais, e mesmo estando disponíveis existe a questão da quarentena para controle de zoonoses (MARIANO, 2003).

O cão, erroneamente, ainda é visto como animal mais factível do uso em pesquisa, não se levando em conta os aspectos da pouca semelhança filogenética, anatômica e fisiológica, quando comparado ao suíno. Outra comparação a ser feita entre as duas espécies se dá pelo aspecto cultural da nossa sociedade em que o cão é visto como “o melhor amigo do homem”, gerando envolvimento emocional na sociedade.

A utilização desses animais na pesquisa não estendeu o período recomendado pelo abate, seguindo os padrões econômicos recomendados pela suinocultura industrial (ROPPE, 2006). A carcaça dos animais envolvidos na pesquisa foi aproveitada para o consumo. Para essas situações, em relação à anestesia geral em suínos, caso se opte pelo abate do animal para fins de consumo, logo após a cirurgia é recomendado que se aguarde um período antemorte de 24 horas (MASSONE, 2003). Pode ser utilizado ainda um analéptico respiratório, a fim de eliminar o mais rápido possível o anestésico volátil (MASSONE, 2003).

Ainda sobre a questão de administração de medicamentos, Papich (1996) realizou revisão sobre resíduos de drogas anestésicas e auxiliares usadas em animais produzidos para alimento. O autor salienta que é prática esperar pelo menos entre 48 a 96 horas após administração da maioria de anestésicos e drogas auxiliares

antes do abate do animal, proporcionando tempo suficiente para eliminação destas drogas. Os medicamentos utilizados no presente estudo estão enquadrados nesta situação.

Tanto nas normas dos Princípios Éticos de Experimentação Animal do COBEA como na Lei Federal nº 6638, de 08 de maio de 1979 não existe menção sobre o consumo da carne do animal. No entanto é de primordial importância o bom senso do pesquisador sobre o aproveitamento ou não da carne suína frente ao delineamento proposto, pois certas metodologias podem inviabilizar o aproveitamento da carne para o consumo. Na administração de drogas, materiais ou procedimentos com efeito pouco conhecidos é recomendável que não se opte pelo aproveitamento da carcaça.

Entre os oito animais envolvidos no experimento incluindo um animal usado no estudo piloto, um deles morreu no trans-operatório. Não se pode precisar o que acarretou a morte do suíno. Entre os possíveis fatores que podem estar envolvidos está o uso do halotano utilizado como agente anestésico volátil o qual pode desencadear em animais susceptíveis o surgimento da PSS (ALMOND, 1996). No entanto, nenhum teste foi realizado que indique que a morte se deu pela síndrome

Também se deve ter cuidado com utensílios que por vezes são usados para diminuir a tensão dos animais, como correntes de ferro que são colocadas nas baias. Neste estudo ocorreram problemas em dois animais que foram alojados com o uso de correntes e que ao fim do segundo período de acompanhamento (70 ± 5 dias) apresentavam os dentes primeiros incisivos, com desgaste incisal acentuado. A presença de desgaste inviabiliza a utilização dos mesmos pois o desgaste geralmente acarreta formação de dentina reacional introduzindo assim um estímulo adicional ao do material testado sobre a polpa.

Outro aspecto que merece destaque é a facilidade de acesso aos dentes utilizados, atribuído a abertura bucal natural após a anestesia geral. Foi constatado no experimento, que os ângulos dos lábios do suíno estão situados numa posição lateral e bem inferior na face, ou seja, seus lábios prolongam-se inferiormente na lateral da face. Esta verificação está de acordo com a descrição anatômica da boca do suíno feita por Sisson (1981) e Dyce, Sack e Wensing (1997).

A escolha dos dentes utilizados nesse estudo deu-se em função de alguns aspectos que merecem destaque. A coroa dos incisivos inferiores é bastante similar a dos incisivos permanentes humanos, embora sua raiz seja mais longa, esses dentes foram utilizados no presente estudo, o mesmo não acontecendo para os incisivos superiores. Os incisivos superiores apresentam-se intruídos quase que totalmente no alvéolo e são alargados no sentido mesio-distal (NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1979; SISSON, 1981; DYCE; SACK; WENSING, 1997), com coroa clínica muito pequena, não sendo possível realizar os procedimentos nestes dentes.

Outros dentes utilizados na pesquisa foram os segundos e terceiros pré-molares. Esses dentes apresentam três cúspides, não apresentam grande diâmetro vestibulo-lingual, mas são de fácil abordagem, podendo ser acessados sem dificuldades (NICKEL, SCHUMMER; SEIFERLE, 1979).

A erupção completa da dentição decídua em suínos entre dois e três meses possibilitou que esta pesquisa fosse realizada nos períodos de tempos recomendados pela ISO 7405:1997, sem que os animais apresentassem tamanho e peso inoperantes.

Os testes de capeamento pulpar indireto, capeamento pulpar direto e pulpotomia (ISO 7405:1997) são usados para testar a biocompatibilidade de materiais dentários sendo amplamente usados em dentes permanentes e decíduos de humanos e dentes de animais (DEMARCO et al., 2001; SALAKO et al., 2003; MENEZES et al., 2004; AGAMY et al., 2004; FARSI et al., 2005; QUEIROZ et al., 2005; MARKOVIC; ZIVOJINOVIC; VUCETIC, 2005).

São encontrados alguns estudos em decíduos de animais, principalmente cães (RUSSO et al., 1986; OZTAS et al., 1994; GIRO; BAUSELLS; PERCINOTO, 1991; RIBEIRO et al., 2000; EL-MELIGY et al., 2001). A escassez de referências usando o modelo biológico deste estudo em estudos pré-clínicos de biocompatibilidade, talvez se deva ao receio das dificuldades que poderiam ser encontradas, como o manuseio e manutenção de um animal grande, a lembrança da época em que o suíno era criado na lama e também a falta de conhecimento sobre a dentição dos suínos.

Há cerca de cento e cinquenta anos modelos de animais têm sido desenvolvidos para estudo das causas, mecanismos e terapêutica das doenças humanas (FAGUNDES; TAHA, 2004).

A visão da sociedade, em relação aos animais experimentais, é particularmente sensível a pouca relevância de certas pesquisas, realizadas previamente a instituição das leis vigentes. O Brasil ainda não possui uma legislação que efetivamente regule a criação e o uso de animais para a pesquisa, em âmbito nacional. Existe na nossa sociedade o estigma do pesquisador como “exterminador” de cães, primatas, camundongos entre outros (COBEA, 2005).

O presente estudo foi conduzido por equipe multidisciplinar de médicos veterinários e odontólogos. É importante a participação e a integração da equipe multidisciplinar em todas as etapas da pesquisa desde a elaboração do projeto, execução do piloto e realização da metodologia propriamente dita. Não foram raras às vezes em que a equipe teve que se reunir para poder restabelecer aspectos da metodologia. O desafio de explorar novas metodologias em modelos animais levou os pesquisadores a buscar informações básicas de suinocultura, aspectos anatômicos, cronologia de erupção, entre outras informações, que poderão servir de base a diversas outras pesquisas multidisciplinares.

Finalmente, para que haja validade deste modelo suíno para testes em polpas dentárias torna-se necessário uma série de estudos complementares com diferentes materiais e técnicas. O que proporcionará comparações com outros modelos animais rotineiramente utilizados.

A viabilidade econômica desse tipo de modelo, como baixo custo de aquisição quando comparada a modelos como minipigs, cães beagle, macacos, assim como o baixo custo na manutenção durante o período da pesquisa, deve ser levada em consideração para testes rotineiros de biocompatibilidade necessários para o desenvolvimento de novos materiais.

Deve-se ter cuidado na extrapolação de resultados de uma espécie para a outra. A padronização e a sistematização de procedimentos com os modelos experimentais é essencial para um avanço mais confiável e epistemológico do conhecimento, respeitando a ética no uso do modelo animal experimental.

8 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos deste estudo, conclui-se:

a) Ambos os materiais utilizados demonstraram capacidade em promover o reparo, com a formação de dentina reparativa aos 70 dias.

b) O HC demonstrou maior destruição do tecido pulpar, dada pela presença mais freqüente de inflamação no início do reparo (aos 7 dias), o que parece atrasá-lo, enquanto o MTA, ao contrário, dada a sua capacidade de promover o reparo pulpar mantendo a integridade tecidual e estimulando a formação de barreira dentinária, demonstrou neste estudo uma tendência em acelerar o processo de regeneração pulpar, iniciando a deposição de dentina reparativa ainda nas primeiras fases do reparo.

c) O modelo suíno usado neste estudo demonstrou ser uma alternativa economicamente viável para testes de resposta pulpar.

REFERÊNCIAS

- ACCORINTE ML, LOGUERCIO AD, REIS A, MUENCH A, ARAUJO VC. Adverse effects of human pulps after direct pulp capping with the different components from a total-etch, three-step adhesive system. **Dental Materials**, Copenhagen, v.21, n.7, p.599-607, july 2005.
- AGAMY, HA; BAKRY, NS; MOUNIR, MM; AVERY, DR. Comparison of mineral trioxide aggregate and formocresol as pulp-capping agents in pulpotomized primary teeth. **Pediatric Dentistry**, Chicago, v.26, n.4, p.302-309, july/aug. 2004.
- AKIMOTO, N; MOMOI, Y; KOHNO, A; SUZUKI, S; OTSUKI, M; SUSUKI, SH; COX, CF. Biocompatibility of Clearfil Liner Bond 2 and Clearfil AP-X system on nonexposed and exposed primate teeth. **Quintessence International**, Berlin, v. 29, n.3, p.177-88, mar. 1998.
- ALMOND, GW. Research applications using pigs. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, Philadelphia, v.12, n.3, p.707-716, nov.1996.
- ANDRADE, MCR. A utilização de Símios do gênero *Callithrix* como modelo experimental. FIOCRUZ/RJ. Disponível em <<http://www.cobea.org.br/artigo4.htm>>. Acesso em: 14 mar. 2006.
- BAKER, DG. Natural pathogens of laboratory Mice, Rats, and Rabbits and their effects on research. **Clinical Microbiology Reviews**, v.11, n.2, p.231-266, apr. 1998.
- BARTHEL, CR; ROSENKRANZ, B; LEUENBERG, A; ROULET, JF. Pulp capping of carious exposures: treatment outcome after 5 and 10 years: a retrospective study. **Journal of Endodontics**, Chicago, v.26, n.9, p.525-528, sep. 2000.
- BASTOS, RG. **Caracterização do gene do estresse suíno e seu efeito sobre peso e composição da carcaça**. 1998. 44p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- BERGER, JE. A review of the erroneously labeled "mummification" techniques of pulp therapy. **Oral surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology**, St. Louis, v.34, n.1, p.131-144, july 1972.
- BERMEJO, A; GONZALEZ O; GONZALEZ JM. The pig as an animal model for experimentation on the temporomandibular articular complex. **Oral Surgery, Oral**

Medicine, and Oral Pathology, St. Louis, v.75, n.1, p. 18-23, jan.1993.

BERNABÉ, PF; HOLLAND, R. MTA e cimento Portland: Considerações sobre as propriedades físicas, químicas e biológicas. In: **Odontologia arte e conhecimento**. São Paulo:Artes Médicas, 2003. p.225-264.

BIRMAN, EG. Pesquisa em animais: um assunto controverso /Editorial/. **Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v.11, n.2, abr./jun. 1997.

BOOK, AS; BUSTAD, LK. The fetal and neonatal pig in biomedical research. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.38, n.5, p.997-1002, may 1974.

BRÄNNSTRÖM, M; NORDENVALD, KJ. The effect of acid etching on enamel, dentin and the inner surface of the resin restoration: a scanning electron microscopic investigation. **Journal of Dental Research**, Chicago, v.56, n.8, p.917-923, aug. 1977.

BRASIL. Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979, que estabelece normas para a prática didático-científica da vivisseção de animais. . Disponível em <<http://www.cobea.org.br/etica.htm#1>>. Acesso em: 24 out. 2005.

BROWN, RC; HOPPS, HC. Staining of bacteria in tissue section: a reliable gram stain method. **American Journal of Clinical Pathology**, Chicago, v.60, n.2, p.234-240, aug. 1973.

BROWNE, RM. Animal testes for biocompatibility of dental materials-relevance, advantages and limitations. **Journal of Dentistry**, Bristol, v.22, suppl.2, p.s21-s24, 1994.

ÇALISKAN, MK. Pulpotomy of carious vital teeth with periapical involvement. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.28, n.3, p.172-176, may 1995.

CASAS, MJ; KENNY, DJ; JUDD, PL; JOHNSTON, DH. Do we still need formocresol in pediatric dentistry? **Journal of the Canadian Dental Association**, Ottawa, v.71, n.10, p. 749-751, nov. 2005.

CHAIN, MC; CHAIN, JB; COX, CC. Hidróxido de cálcio: uma revisão crítica. **Revista Brasileira de Odontologia**, Rio de Janeiro, v.54, n.5, p.306-11, set./out. 1997.

COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) Princípios Éticos na Experimentação Animal. Disponível em: <<http://www.cobea.org.br/etica.htm#3>>. Acesso em 10 out. 2005.

CORTES, O; GARCIA, C; BERNABE, A. Pulpal evaluation of two adhesive systems in rat teeth. **The Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, Birmingham, v.25, n.1, p.73-77, fall 2000.

COSTA, CAS. Testes de citotoxicidade em cultura de células. In: **Metodologia Científica**. São Paulo:Artes Médicas, 2001. p.145-160.

COSTA, CAS; HEBLING, J; HANKS, CT. Current status of pulp capping with dentin adhesive systems: a review. **Dental Materials**, Copenhagen, v.16, n.3, p.188-197, may 2000.

COX, CF; KEALL, CL; KEALL, HJ; OSTRO, E; BERGENHOLTZ, G. Biocompatibility of surface-sealed dental materials against exposed pulps. **The Journal of Prosthetic Dentistry**, St. Louis, v.57, n.1, p.1-8, jan. 1987.

COX, CF; SUBAY, RK; OSTRO, E; SUSUKI, S; SUZUKI, SH. Tunnel defects in dentin bridges: their formation following direct pulp capping. **Operative Dentistry**, Seattle, v.21, n.1, p.4-11, jan/feb. 1996.

DAMMASCHKE, T; STRATMANN, U; DANESH, G; SCHAFER, E; OTT, KH. Reaction of rat pulp tissue to Carisolv "new gel"- a histocytological evaluation. **Australian Dental Journal**, Sydney, v.51, n.1, p.57-63, mar. 2006.

DEMARCO, FF; TARQUINIO, SB; JAEGER, MM; DE ARAUJO, VC; MATSON, E. Pulp response and cytotoxicity evaluation of 2 dentin bonding agents. **Quintessence Int**, Berlin, v.32, n.3, p.211-220, mar. 2001.

DOMINGUEZ, MS; WITHERSPOON, DE; GUTMANN, JL; OPPERMAN, LA. Histological and scanning electron microscopy assessment of various vital pulp-therapy materials. **Journal of Endodontics**, Chicago, v.29, n.5, p.324-333, may 2003.

DYCE, KM; SACK, WO; WENSING, CJG. **Tratado de anatomia veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 1997. 663p.

EL-MELIGY, O; ABDALLA, M; EL-BARAWAY, S; EL-TEKYA, M; DEAN, JA. Histological evaluation of electrosurgery and formocresol pulpotomy techniques in primary teeth in dogs. **The Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, Birmingham, v.26, n.1, p.81-85, fall 2001.

ENGLAND, DC; WINTERS, LM, CARPENTER, LE. The development of a breed of miniature swine: a preliminary report. Growth, 1954, v.18. In: MARIANO, M; Minisuíno (minipig) na pesquisa biomédica experimental: o Minipig br1. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.18, n.5, p.387-391, set./out. 2003.

ERSIN, NK; ERONAT, N. The comparison of a dentin adhesive with calcium hydroxide as a pulp-capping agent on the exposed pulps of human and sheep teeth. **Quintessence International**, Berlin, v.36, n.4, p.271-280, apr. 2005.

FARACO Jr, IM; HOLLAND, R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. **Dental Traumatology**, Copenhagen, v.17, n.4, p.163-166, aug. 2001.

FAGUNDES, DJ; TAHA, MO. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.19, n.1, p.59-65, jan./fev. 2004.

FARSI, N; ALAMOUDI, N; BALTO, K; MUSHAYT, A. Success of mineral trioxide aggregate in pulpotomized primary molars. **The Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, Birmingham, v.29, n.4, p.307-311, summer 2005.

FITZGERALD, M. Cellular mechanics of dentinal bridge repair using H-Thymidine. **Journal of Dental Research**, Chicago, v.58, Special Issue D, p.2198-2206, nov. 1979.

FITZGERALD, M; HEYS, RF. A clinical and histological evaluation of conservative pulpal therapy in human teeth. **Operative Dentistry**, Seattle, v.16, n.3, p.101-112, may/june 1991.

FOX, AG; HEELEY, JD. Histological study of pulps of human primary teeth. **Archives Oral Biology**, Oxford, v.25, n.2, p.103-110, 1980.

FREIRE, MC; PATUSSI, MP. Tipos de estudos. In: ESTRELA C. **Metodologia científica: ensino e pesquisa em odontologia**. São Paulo: Ed. Artes Médicas, 2001. p.122-143.

GIRO, EM; BAUSELLS, HI; PERCINOTO, C. Estudo histopatológico em molares decíduos de cães, com polpas vitais, submetidos a pulpotomia e proteção com hidróxido de cálcio, formocresol e glutaraldeído. **Revista de Odontologia da UNESP**, Araraquara, v.20, n.1, p.51-62, 1991.

GRAHAM, L; COOPER, PR; CASSIDY, N; NOR, JE; SLOAN, AJ; SMITH, AJ. The effect of calcium hydroxide on solubilisation of bio-active dentine matrix components. **Biomaterials**, Guilford, v.27, n.14, p.2865-2873, may 2006.

GRONTHOS, S; BRAHIM, J; LI, W; FISHER, LW; CHERMAN, N; BOYDE, A; DENBSTEN, P; ROBEY, PG; SHI, S. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. **Journal Dental Research**, Chicago, v.81, n.8, p.531-535, aug. 2002.

GRONTHOS, S; MANKANI, M; BRAHIM, J; ROBEY, PG; SHI, S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) *in vitro* and *in vivo*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.97, n.25, p.13625-13630, dec. 2000.

HASKELL, EW; STANLEY, HR; CHELLEMI, J; STRINGFELLOW, H. Direct pulp capping treatment: a long-term follow-up. **Journal American Dental Association**, Chicago, v.94, n.4, p.607-612, oct. 1978.

HEBLING, J; GIRO, EMA; COSTA, CAS. Biocompatibility of an Adhesive System Applied to Exposed Human Dental Pulp. **Journal of Endodontics**, Chicago, v.25, n.10, p. 676-682, oct. 1999.

HERRING, SW. The dynamics of mastication in pigs. **Archives Oral Biology**, Oxford, v.21, n.8, p.473-480, 1976.

HOLLAND, R. Histochemical response of amputated pulps to calcium hydroxide. **Revista Brasileira de Pesquisa Médicas e Biológicas**, v.4, n.1-2, p.83-95, 1971.

HOLLAND, R; SOUZA, V; MELLO, W; NERY, MJ; BERNABÉ, PFE; OTOBONI FILHO, JA. Permeability of the hard tissues bridge formed after pulpotomy with calcium hydroxide: a histological study. **Journal American Dental Association**, Chicago, v.99, n.3, p.472-475, sep. 1979.

HOLLAND, R; SOUZA, V; MÉRIDA DELGADO, RJ; MURATA, SS. Agregado de trióxido mineral (MTA): composição, mecanismo de ação, comportamento biológico e emprego clínico. **Revista Ciências Odontológicas**, São Paulo, v.5, n.5, p.7-20, 2002.

HOLLAND, R; SOUZA, V; MURATA, SS; NERY, MJ; BERNABÉ, PFE; OTOBONI FILHO, JA; DEZAN JÚNIOR, E. Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and pulp covering with mineral trioxide aggregate or cement Portland. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v.12, n.2, p.109-113, 2001.

HOLLAND, R; SOUZA, V; NERY, MJ; OTOBONI FILHO, JA; BERNABÉ, PFE; DEZAN JÚNIOR, E. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. **Journal of Endodontics**, Chicago, v.25, n.3, p.161-166, mar. 1999.

HUSBY, P; HELTNE, JK; KOLLER, ME; BIRKELAND, S; WESTBY, J; FOSSE R; LUND, T. Midazolam-fentanyl-isoflurane anaesthesia is suitable for haemodynamic and fluid balance studies in pigs. **Laboratory Animals**, Londres, v.32, n.3, p.316-323, july 1998.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Dentistry – Preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry – Test methods for dental materials. ISO 7405:1997. Disponível em: <<http://www.iso.ch/iso/en/prods-services/ISOstore/store.html>>. Acesso em 28 nov. 2005.

IOHARA, K; NAKASHIMA, M; ITO, M; ISHIKAWA, M; NAKASHIMA, A; AKAMINE, A. Dentin regeneration by dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone

morphogenetic protein 2. **Journal Dental Research**, Chicago, v.83, n.8, p.590-595, aug. 2004.

ISLAM, I; CHNG, HK; YAP, AU. Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and Portland cement. **Journal of Endodontics**, Chicago, v.32, n.3, p.193-197, mar. 2006.

JEPSEN, S; ALBERS, HK; FLEINER, B; TUCKER, M; RUEGER, D. Recombinant human osteogenic protein-1 induces dentin formation: an experimental study in miniature swine. **Journal of Endodontics**, Chicago, v.23, n.6, p.378-382, june 1997.

JUNQUEIRA Jr, LF; UBATUBA, FB. Espécies de animais empregados em experimentação laboratorial. Disponível em: <http://www.unb.br/fs/clm/labcor/Animalab/Animalab.htm>. Acesso em: 25 jan. 2005.

KALNINS, V; FRISBIE, HE. The effect of dentine fragments on the healing of the exposed pulp. **Archives Oral Biology**, Oxford, v.2, p.96-103, july 1960.

KAKEHASHI, S; STANLEY, HR; FITZGERALD, RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology**, St. Louis, v.20, n.3, p.340-349, sep. 1965.

KOLINIOTOU-KOUMPIA, E; TZIAFAS, D. Pulpal responses following direct pulp capping of healthy dog teeth with dentine adhesive systems. **Journal of Dentistry**, Bristol , v.33, n.8, p.639-647, sep. 2005.

LE GOFF, A; DAUTEL-MORAZIN, A; GUIGAND, M; VULCAIN, JM; BONNAURE-MALLET, M. An evaluation of the CO₂ laser for endodontic disinfection. **Journal of Endodontics**, Chicago, v.25, n.2, p.105-08, feb. 1999.

LEE, S; MONSEF, M; TORABINEJAD, M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. **Journal of Endodontics**, Chicago, v.19, n.11, p.541-544, nov. 1993.

MALAVASI, LM; NYMAN, G. Anestesia e analgesia em suínos utilizados como modelo experimental. **Revista do Conselho de Medicina Veterinária**, Brasília, n. 31, p.23-27, jan./abr. 2004.

MARIANO, M; Minisuíno (minipig) na pesquisa biomédica experimental: o Minipig br1. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.18, n.5, p.387-391, set./out. 2003.

MARKOVIC, D; ZIVOJINOVIC, V; VUCETIC, M. Evaluation of three pulpotomy medicaments in primary teeth. **European Journal of Paediatric Dentistry**, Milano, v.6, n.3, p.133-138, sep. 2005.

MASSARA, MLA. Terapia pulpar em dentes decíduos: pensar e refazer conceitos. In: **Opinion Makers. Conceitos e procedimentos para uma nova odontologia**. 1 ed. São Paulo: WW Comunicações Limitada, 2002, p. 116-145.

MASSONE, F. **Anestesiologia veterinária - farmacologia e técnicas**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003, cap.13, p.131-139.

MENEZES, R; BRAMANTE, CM; LETRA, A; CARVALHO, VGG; GARCIA, RB. Histologic evaluation of pulpotomies in dog using two types of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements as wound dressings. **Oral surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, St. Louis, v.98, n.3, p.376-379, sep. 2004.

MILLER, ER; ULLREY, DE. The pig as a model for human nutrition. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v.7, p.361-382, 1987.

MITSIADIS, TA; RAHIOTIS, C. Parallels between tooth development and repair: conserved molecular mechanisms following carious and dental injury. **Journal Dental Research**, Chicago, v.83, n.12, p.896-902, dec. 2004.

MIURA, M; GRONTHOS, S; ZHAO, M; LU, B; FISHER, LW; ROBEY, PG; SHI, S. SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.100, n.10, p.5807-5812, may 2003.

MJÖR, IA; DAHL, E; COX, CF. Healing of pulp exposures: an ultrastructural study. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, Copenhagen, v.20, n.10, p.496-501, nov. 1991.

MJÖR, IA; FERRARI, M. Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 6: Reactions to restorative materials, tooth-restoration interfaces, and adhesive techniques. **Quintessence International**, Berlin, v.33, n.1, p.35-63, jan. 2002.

MJÖR, IA. Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 7: The exposed pulp. **Quintessence International**, Berlin, v.33, n.2, p.113-135, feb. 2002.

MONDELLI, J. Proteções diretas do complexo dentinopulpar. In: Mondelli, J. **Proteção do complexo dentinopulpar**. São Paulo: Artes Médicas: EAP-PCD, 1998. p.123-167.

MOON, PF; SMITH, LJ. General anesthetic techniques in swine. **Veterinary Clinics of North American: Food Animal Practice**, v.12, n.3, p.663-691, nov. 1996.

MULLER, WA. Leukocyte-endothelial cell interactions in the inflammatory response. **Laboratory Investigation**, New York, v.82, n.5, p. 521-533, may 2002.

MURRAY, PE; HAFEZ, AA; SMITH, AJ; COX, CF. Hierarchy of pulp capping and repair activities responsible for dentin bridge formation. **American Journal of Dentistry**, San Antonio, v.15, n.4, p.236–243, aug. 2002.

MURRAY, PE; HAFEZ, AA; SMITH, AJ; WINDSOR, LJ; COX, CF. Histomorphometric analysis of odontoblast-like cell numbers and dentine bridge secretory activity following pulp exposure. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.36, n.2, p.106–116, feb. 2003.

MURRAY, PE; LUMLEY, PJ; SMITH, AJ; ROSS, HF. The influence of sample dimensions on hydroxyl ion release from calcium hydroxide products. **Endodontics & Dental Traumatology**, Copenhagen, v.16, n.6, p.251-257, dec. 2000.

MURRAY, PE; WINDSOR, LJ; SMYTH, TW; HAFEZ, AA; COX, CF. Analysis of Pulpal reactions to restorative procedures, materials. Pulp capping and future therapies. **Critical Reviews in Oral Biology e Medicine**, Boca Raton FL, v.13, n.6, p.509-520, 2002.

NAKAMURA, Y; HAMMARSTRÖM, L; MATSUMOTO, K; LYGSTADAAS, SP. The induction of reparative dentine by enamel proteins. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.35, n.5, p.407-417, may. 2002.

NAKAMURA, Y; SLABY, I; MATSUMOTO, K; RITCHIE, HH; LYGSTADAAS, SP. Immunohistochemical characterization of rapid dentin formation induced by enamel matrix derivative. **Calcified Tissue International**, New York, v.75, n.3, p.243-52, sep. 2004.

NAKASHIMA, M; AKAMINE, A. The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics. **Journal of Endodontics**, Chicago, v.31, n.10, p.711-718, oct. 2005.

NATHAN, C. Points of control in inflammation. **Nature**, Londres, v.420, n.19/26, p.846-852, dec. 2002.

NICKEL, R; SCHUMMER, A; SEIFERLE, E. **The viscera of the domestic mammals**. 2 ed. Berlin,Hamburg:Parey, 1979. 401p.

NORMANDO, VMF; BRITO, MVH; ARAUJO JR, FA; ALBUQUERQUE, BCM. Repercussões respiratórias do pneumoperitônio induzido em suínos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.19, n.6, p.664-669, nov./dez. 2004.

OGUNTEBI, B; CLARK, A; WILSON, J. Pulp capping with Bioglass and autologous demineralized dentin in miniature swine. **Journal of Dental Research**, Alexandria, v.72, n.2, p.484-489, feb. 1993.

OZTAS, N; ULUSU, T; OYGUR, T; COKPEKIN, F. Comparison of electrosurgery and formocresol as pulpotomy techniques in dog primary teeth. **The Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, Birmingham, v.18, n.4, p.285-289, summer 1994.

PAIVA-NOVAES, MS; FERREIRA, FD; NICOLAU, J. Adenine nucleotide contents and ATPases activities in porcine deciduous dental pulp during the root formation, in fully formed root and during root resorption phases. **Journal of Biologie Bucalle**, Paris, v.17, n.3, p.187-92, sep. 1989.

PAPICH, MG. Drug residue considerations for anesthetics and adjunctive drugs in food-producing animals. **Veterinary Clinics of North American: Food Animal Practice**, v.12, n.3, p.693-706, nov. 1996.

PARIROKH, M; ASGARY, S; EGHBAL, MJ; STOWE, S; ESLAMI, B; ESKANDARIZADE, A; SHABAHANG, S. A comparative study of white and grey mineral trioxide aggregate as pulp capping agents in dog's teeth. **Dental Traumatology**, Copenhagen, v.21, n.3, p.150-154, june 2005.

PEREIRA, JC; MANFIO, AP; FRANCO, EB; LOPES, ES. Clinical evaluation of Dycal under amalgam restorations. **American Journal of Dentistry**, San Antonio, v.3, n.2, p.67-70, apr. 1990.

PEREIRA-SAMPAIO, MA; FAVORITO, LA; SAMPAIO FJ. Pig kidney: anatomical relationships between the intrarenal arteries and the kidney collecting system. Applied study for urological research and surgical training. **The Journal of Urology**, Baltimore, v. 172, n.5Pt1, p.2077-2081, nov. 2004.

PITT FORD, TR; ROBERTS, GJ. Immediate and delayed direct pulp capping with the use of a new visible light-cured calcium hydroxide preparation. **Oral surgery, Oral Medicine, an Oral Pathology**, St. Louis, v.71, n.3, p.338-42, mar. 1991.

PITT FORD, TR; TORABINEJAD, M; ABEDI, HR; BAKLAND, LK; KARIYWASAM, SP. Using mineral trioxide aggregate as a pulp-capping material. **Journal American Dental Association**, Chicago, v.127, n.10, p.1491-1494, oct. 1996.

PIVA, E. **Avaliação da expressão de componentes da matriz extracelular (fibronectina e tenascina) após capeamento direto com hidróxido de cálcio em polpas humanas**. 2002. 80p. Dissertação (Mestrado em Dentística) - Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

PIVA, F; FARCO JR, IM; KRAMER, PF; SILVA, MB. Avaliação da utilização das técnicas de capeamento pulpar indireto e direto em dentes decíduos nas faculdades de odontologia do Brasil. **Revista da Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo**, Passo Fundo, v.9, n.2, p.60-67, 2004.

POND, WG; HOUP, KA. The biology of the pig. Ithaca, NY:Comstock, 1978. 371p. In: MILLER, ER; ULLREY, DE. The pig as a model for human nutrition. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v.7, p.361-382, 1987.

QUEIROZ, AM; ASSED, S; LEONARDO, MR; NELSON-FILHO, P; SILVA, LAB. MTA and calcium hydroxide for pulp capping. **Journal Applied Oral Science**, Bauru, v.13, n.2, p.126-130, apr./june 2005.

RANDOMIZER. Disponível em <<http://www.randomizer.org/form.htm>>. Acesso em 14 out. 2005.

RANLY, DM. Pulpotomy therapy in primary teeth: new modalities for old rationales. **Pediatric Dentistry**. Chicago, v.16, n.6, p.403-409, nov./dec. 1994.

RANLY, DM; GARCIA-GODOY, F. Current and potential pulp therapies for primary and young permanent teeth. **Journal of Dentistry**, Bristol, v.28, n.3, p.153-161, mar. 2000.

RIBEIRO, RA; MYAKI, SI; GIOSO, MA; ARAÚJO, NS. Resposta pulpar de dentes decíduos de cães a um sistema adesivo ou ao cimento de hidróxido de cálcio. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, São Paulo, v.14, n.1, p.47-52, jan.-mar. 2000.

RIBEIRO, DA; MATSUMOTO, MA; DUARTE, MA; MARQUES, ME; SALVADORI, DM. *In vitro* biocompatibility tests of two comercial types of mineral trioxide aggregate. **Brazilian Oral Research**, São Paulo, v.19, n.3, july-sep. 2005.

ROPPIA, L. Carne suína: Mitos e verdades. Disponível em http://www.abipecs.org.br/mitos_verdades.pdf Acesso em 08 abr. 2006.

RUSCHEL, HC; FOSSATI, ACM. Bases Biológicas. In: **Traumatismos na dentição decídua – Prevenção, diagnóstico e tratamento**. São Paulo: Santos, 2005. p.9-50.

RUSSO, MC; PERCINOTO, C; ANDRIONI, JN; BENFATTI, SV. Efeitos da aplicação da solução de diaminofluoreto de prata a 38 por cento em dentina de dentes decíduos de cães. **Revista Brasileira de Odontologia**, Rio de Janeiro, v.43, n.2, p.14-19, mar.-abr. 1986.

SABIR, A; TABBU, CR; AGUSTIONO, P; SOSROSENO, W. Histological analysis of rat dental pulp tissue capped with própolis. **Journal of Oral Science**, Tokyo, v.47, n.3, p.135-138, sep. 2005.

SALAKO, N; JOSEPH, B; RITWIK, P; SALONEN, J; JOHN, P; JUNAID, TA. Comparison of bioactive glass, mineral trioxide aggregate, ferric sulfate, and formocresol as pulpotomy agents in rat molar. **Dental Traumatology**, Copenhagen, v.19, n.6, p.314-320, dec. 2003.

SARI, S; ARAS, S; GUNHAN, O. The effect of physiological root resorption on repair potential of primary tooth pulp. **The Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, Birmingham, v.23, n.3, p.227-233, spring 1999.

SCHIERANO, G; CANUTO, RA; NAVONE, R; PEIRONE, B; MARTINASSO, G; PAGANO, M; MAGGIORA, M; MANZELLA, C; EASTON, M; DAVIT, A; TROMBETTA, A; AMEDEO, S; BIOLATTI, B; CAROSSA, S; PRETI, G. Biological factors involved in the osseointegration of oral titanium implants with different surfaces: a pilot study in minipigs. **Journal of Periodontology**, Chicago, v.76, n.10, p.1710-1720, oct. 2005.

SCHRÖDER, U. Effects of calcium hydroxide-containing pulp capping agents on pulp cell migration, proliferation, and differentiation. **Journal of Dental Research**, Chicago, v.64 (Special Issue), p.541-548, apr. 1985.

SCHUURS, AH; GRUYTHUYSEN, RJ; WESSELINK, PR. Pulp capping with adhesive resin-based composite vs. calcium hydroxide: a review. **Endodontics & Dental Traumatology**, Copenhagen, v.16, n.6, p.240-250, dec. 2000.

SILVA, AF; TARQUINIO, SB; DEMARCO, SB; PIVA, E; RIVERO, ER. The influence of haemostatic agents on healing of healthy human dental pulp tissue capped with calcium hydroxide. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.39, n.4, p.309-316, apr. 2006.

SISSON, S. Sistema digestivo do suíno. In: SISSON, S; GROSSMAN, JD. **Anatomia dos animais domésticos**. 5 ed., v.2. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 1981. p.1188-1202.

SMITH, AJ. Pulpal responses to caries and dental repair. **Caries Research**, Basel, v.36, n.4, p.223-232, july-aug. 2002.

STANLEY, HR. Pulp capping: conserving the dental pulp - can it be done? Is it worth it? **Oral surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology**, St. Louis, v.68, n.5, p.628-639, nov. 1989.

STANLEY, HR. Criteria for standardizing and increasing credibility of direct pulp capping studies. **American Journal of Dentistry**, San Antonio, v.11, Special Issue, p.S17-S34, jan. 1998.

STANLEY, HR; GOING, RE; CHAUNCEY, HH. Human pulp response to acid pretreatment of dentin and to composite restoration. **Journal American Dental Association**, Chicago, v.91, n.4, p.817-825, 1975.

STANLEY, HR; LUNDY, T. Dycal therapy for pulp exposures. **Oral surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology**, St. Louis, v.34, n.5, p.818-827, nov. 1972.

STANLEY, HR; PAMEIJER, CH. Dentistry's friends: calcium hydroxide. **Operative Dentistry**, Seattle, v.22, n.1, p.1-3, jan./feb. 1997.

TSUJI, T; TAKEI, K; INOUE, T; SHIMONO, M; YAMAMURA, T. An experimental study on wound healing of surgically exposed dental pulps in germ-free rats. **The Bulletin of Tokyo Dental College**, Tokyo, v.28, n.1, p.35-38, feb. 1987.

TZIAFAS, D. Mechanisms controlling secondary initiation of dentinogenesis: a review. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.27, n.2, p.61-74, mar.1994.

TZIAFAS, D; SMITH, AJ; LESOT, H. Designing new treatment strategies in vital pulp therapy. **Journal of Dentistry**, Bristol, v.28, n.2, p.77-92, feb. 2000.

TZIAFAS, D; PANTELIDOU, O; ALVANOU, A; BELIBASAKIS, G; PAPADIMITRIOU, S. The dentinogenic effect of mineral trioxide aggregate (MTA) in short-term capping experiments. **International Endodontic Journal**, Oxford, v.35, n.3, p.245-254, mar. 2002.

TORABINEJAD, M; SMITH, PW; KETTERING, JD; PITT FORD, TR. Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. **Journal of Endodontics**, Chicago, v.21, n.6, p.295-299, june 1995a.

TORABINEJAD, M; HONG, CU; MC DONALD, F; PITT FORD, TR. Physical and Chemical Properties of a New Root-End Filling Material. **Journal of Endodontics**, Chicago, v.21, n.7, p.349-353, july 1995b.

TORABINEJAD, M; CHIVIAN, N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. **Journal of Endodontics**, Chicago, v.25, n.3, p.197-205, mar. 1999.

VALIATI, R; LEMES, CHJ; MACHADO, IG; ZAMBRANO, CBB. Avaliação clínica e histológica do reparo da pele de suíno com o uso de zíper cirúrgico (woundcloster®). **Revista Brasileira de Cirurgia e Implantodontia**.v.28, n.7, p.37-44, 2000.

WATTS, A; PATERSON, RC. A comparison of pulp responses to two different materials in the dog and the rat. **Oral surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology**, St. Louis, v.52, n.6, p.648-652, dec. 1981.

WEAVER, ME; SORENSON, FM; JUMP, EB. The miniature pig as an experimental animal in dental research. **Archives Oral Biology**, Oxford, v.7, p.17-24, jan./feb. 1962.

WIJNBERGEN, M; VAN MULLEM, PJ. The cumulative effective of disinfection, storage, histological fixation and demineralization on number and staining ability of Gram-positive bacteria. **International Endodontic journal**, Oxford, v.24, n.5, p.343-248, sep. 1991.

WILKERSON, MK; HILL, SD; ARCORIA, CJ. Effects of the argon laser on primary tooth pulpotomies in swine. **Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery** , New York, v.14, n.1, p.37-42, feb. 1996.

YOSHIBA, K; YOSHIBA, N; IWAKU, M. Histological observations of hard tissue barrier formation in amputated dental pulp capped with alpha-tricalcium phosphate containing calcium hydroxide. **Endodontics & Dental Traumatology**, Copenhagen, v.10, n.3, p.113-20, june 1994.

APÊNDICE

Tabela demonstrando resultados para cada grupo, de acordo com os critérios e escores pré-estabelecidos.

Variável	Escore			
	0	1	2	3
Resposta Inflamatória				
HC				
7 dias	1	3	3	1
70 dias	5	0	1	0
MTA				
7 dias	9	1	3	0
70 dias	13	0	0	0
Organização Tecidual				
HC				
7 dias	0	7	1	0
70 dias	0	6	0	0
MTA				
7 dias	0	13	0	0
70 dias	0	13	0	0
Dentina Reparativa				
HC				
7 dias	6	2	0	0
70 dias	0	0	6	0
MTA				
7 dias	6	6	1	0
70 dias	0	6	7	0
Dentina Reacional				
HC				
7 dias	1	6	1	0
70 dias	0	6	0	0
MTA				
7 dias	5	4	4	0
70 dias	3	9	1	0

ANEXOS

ANEXO A

Pelotas, 12 de julho de 2005.

DO: Prof. Wladimir Padilha da Silva
Presidente da Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) da
UFPeI

AO: Prof. Antônio Cesar Bortowski Rosa Leites

Senhor Professor:

Informamos que após submissão ao consultor *Ad Hoc*, o projeto intitulado **“Uso de agentes capeadores pulpares diretos em dentes de suínos”**, foi aprovado pela CEEA da UFPeI em reunião realizada no dia 08/07/05 (Ata 03/2005). Outrossim, salientamos que possíveis alterações no projeto original sejam submetidas a análises por essa comissão. Solicitamos que o referido projeto seja encaminhado em versão eletrônica para o e-mail silvawp@ufpel.tche.br, para que possa ser armazenado no banco de dados da CEEA.

Em anexo, encaminhamos o parecer com as sugestões do consultor e documento sobre os princípios éticos na experimentação animal.

Sendo o que tínhamos para o momento, subscrevemo-nos.

Atenciosamente.



Prof. Wladimir Padilha da Silva
DIRETOR DO DEPTO. DE PESQUISA
PRPPG/UFPeI

ANEXO B

COBEA

PRÍNCÍPIOS ÉTICOS NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

A evolução contínua das áreas de conhecimento humano, com especial ênfase àquelas de biologia, medicina humana e veterinária, e a obtenção de recursos de origem animal para atender necessidades humanas básicas, como nutrição, trabalho e vestuário, repercutem no desenvolvimento de ações de experimentação animal, razão pela qual se preconizam posturas éticas concernentes aos diferentes momentos de desenvolvimento de estudos com animais de experimentação.

Postula-se:

Artigo I - É primordial manter posturas de respeito ao animal, como ser vivo e pela contribuição científica que ele proporciona.

Artigo II - Ter consciência de que a sensibilidade do animal é similar à humana no que se refere a dor, memória, angústia, instinto de sobrevivência, apenas lhe sendo impostas limitações para se salvaguardar das manobras experimentais e da dor que possam causar.

Artigo III - É de responsabilidade moral do experimentador a escolha de métodos e ações de experimentação animal.

Artigo IV - É relevante considerar a importância dos estudos realizados através de experimentação animal quanto a sua contribuição para a saúde humana em animal, o desenvolvimento do conhecimento e o bem da sociedade.

Artigo V - Utilizar apenas animais em bom estado de saúde.

Artigo VI - Considerar a possibilidade de desenvolvimento de métodos alternativos, como modelos matemáticos, simulações computadorizadas, sistemas biológicos "in vitro", utilizando-se o menor número possível de espécimes animais, se caracterizada como única alternativa plausível.

Artigo VII - Utilizar animais através de métodos que previnam desconforto, angústia e dor, considerando que determinariam os mesmos quadros em seres humanos, salvo se demonstrados, cientificamente, resultados contrários.

Artigo VIII - Desenvolver procedimentos com animais, assegurando-lhes sedação, analgesia ou anestesia quando se configurar o desencadeamento de dor ou angústia, rejeitando, sob qualquer argumento ou justificativa, o uso de agentes químicos e/ou físicos paralizantes e não anestésicos.

Artigo IX - Se os procedimentos experimentais determinarem dor ou angústia nos animais, após o uso da pesquisa desenvolvida, aplicar método indolor para sacrifício imediato.

Artigo X - Dispor de alojamentos que propiciem condições adequadas de saúde e conforto, conforme as necessidades das espécies animais mantidas para experimentação ou docência.

Artigo XI - Oferecer assistência de profissional qualificado para orientar e desenvolver atividades de transportes, acomodação, alimentação e atendimento de animais destinados a fins biomédicos.

Artigo XII - Desenvolver trabalhos de capacitação específica de pesquisadores e funcionários envolvidos nos procedimentos com animais de experimentação, salientando aspectos de trato e uso humanitário com animais de laboratório.

ANEXO C

Lei n.º 6.638 , de 08 de Maio de 1979.

Estabelece normas para a prática Didático-Científico da vivissecação de animais e determina outras providências.

ART. 1º - Fica permitida, em todo o território nacional, a vivissecação de animais, nos termos desta Lei.

ART. 2º - Os biotérios e os centros de experiências e demonstrações com animais vivos deverão ser registrados em Órgão competente e por ele autorizados a funcionar.

ART. 3º - A vivissecação não será permitida:

1. Sem o emprego de anestesia;
2. Em centros de pesquisas e estudos não registrados em órgão competente;
3. Sem a supervisão de técnico especializado;
4. Com animais que não tenham permanecido mais de quinze dias em biotérios legalmente autorizados;
5. Em estabelecimento de ensino de primeiro e segundo graus e em quaisquer locais freqüentados por menores de idade.

ART. 4º - O animal só poderá ser submetido às intervenções recomendadas nos protocolos das experiências que constituem a pesquisa ou os programas de aprendizado cirúrgico quando, durante ou após a vivissecação, receber cuidados especiais.

1. Quando houver indicação, o animal poderá ser sacrificado sob estrita obediência às prescrições científicas.
2. Caso não sejam sacrificados, os animais utilizados em experiência ou demonstrações somente poderão sair do biotério trinta dias após a intervenção, desde que destinados a pessoas ou entidades idôneas que por eles queiram responsabilizar-se.

ART. 5º - Os infratores estão sujeitos:

1. Às penalidades cominadas no artigo 64, caput, do Decreto Lei nº 3.688 de 03.10.1941, no caso de ser a primeira infração;
2. À interdição e cancelamento do registro do biotério ou do centro de pesquisa, no caso de reincidência.

ART. 6º - O poder Executivo, no prazo de noventa dias, regulamentará a presente Lei, especificando:

1. O órgão competente para o registro e a expedição de autorização dos biotérios e centros de experiências e demonstração com animais vivos;
2. As condições gerais exigíveis para o registro e o funcionamento dos biotérios; III - Órgão e autoridades competentes para a fiscalização dos biotérios e centros mencionados no inciso I.

ART.7º - Esta Lei entrará em vigor na data publicada.

ART. 8º - Revogam-se as disposições em contrário.

Assinado: João Figueiredo, Petrônio Portella, E. Portella e Ernani Guilherme Fernandes da Motta.