



**Universidade Federal de Uberlândia**  
**Faculdade de Odontologia**  
**Programa de Pós-Graduação em Odontologia**



Caio Luiz Lins Candeiro

**Efeito transdentinário de agentes químico-mecânicos  
na citotoxicidade e produção de radicais livres por  
células pulpares**

*Transdental effect of chemical-mechanical agents on  
cytotoxicity and free radical production in pulp cells*

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Odontologia na Área de Concentração de Clínica Odontológica Integrada.

Uberlândia

2021

Caio Luiz Lins Candeiro

**Efeito transdentinário de agentes químico-mecânicos  
na citotoxicidade e produção de radicais livres por  
células pulpares**

*Transdental effect of chemical-mechanical agents on  
cytotoxicity and free radical production in pulp cells*

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Odontologia na Área de Concentração de Clínica Odontológica Integrada.

Orientador: Prof. Dr. Paulo César de Freitas Santos Filho

Co-Orientador: Prof. Dr. Luiz Renato Paranhos

Banca examinadora

Prof. Dr. Dr. Paulo César de Freitas Santos Filho

Profa. Dra. Samira Esteves Afonso Camargo

Prof. Dr. Eduardo Bresciani

Uberlândia

2021

## FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

C216 2021	<p>Candeiro, Caio Luiz Lins, 1993- Efeito transdentinário de agentes químico-mecânicos na citotoxicidade e produção de radicais livres por células pulpares [recurso eletrônico] : Transdental effect of chemical-mechanical agents on cytotoxicity and free radical production in pulp cells / Caio Luiz Lins Candeiro. - 2021.</p> <p>Orientador: Paulo César de Freitas Santos Filho. Coorientador: Luiz Renato Paranhos. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Odontologia. Modo de acesso: Internet. Disponível em: <a href="http://doi.org/10.14393/ufu.di.2021.303">http://doi.org/10.14393/ufu.di.2021.303</a> Inclui bibliografia. Inclui ilustrações.</p> <p>1. Odontologia. I. Santos Filho, Paulo César de Freitas, 1983-, (Orient.). II. Paranhos, Luiz Renato, 1975-, (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Odontologia. IV. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 616.314</p>
--------------	--

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091

# ATA DE DEFESA

07/07/2021

SEI/UFU - 2870831 - Ata de Defesa - Pós-Graduação



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia  
Av. Pará, 1720, Bloco 4L, Anexo B, Sala 35 - Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902  
Telefone: (34) 3225-8115/8108 - www.ppgoufu.com - copod@umuarama.ufu.br



## ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Odontologia				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 388 , PPGODONTO				
Data:	Sete de Julho de Dois Mil e Vinte e Um	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	16:31
Matrícula do Discente:	11912ODO003				
Nome do Discente:	Caio Luiz Lins Candeiro				
Título do Trabalho:	Efeito transdentinário de agentes químico-mecânicos na citotoxicidade e produção de radicais livres por células pulpares				
Área de concentração:	Clínica Odontológica Integrada				
Linha de pesquisa:	Propriedades Físicas e Biológicas dos materiais Odontológicos e das estruturas dentais				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Propriedades Físicas e Biológicas dos materiais Odontológicos e das estruturas dentais				

Reuniu-se em Web Conferência pela plataforma Zoom, em conformidade com a PORTARIA Nº 36, DE 19 DE MARÇO DE 2020 da COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR - CAPES, pela Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Odontologia, assim composta: Professores Doutores: Samira Esteves Afonso Camargo (UF); Eduardo Bresciani (UNESP); Paulo César de Freitas Santos Filho; orientador do candidato.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr Paulo César de Freitas Santos Filho, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.

[https://www.sei.ufu.br/sei/controlador.php?acao=documento\\_imprimir\\_web&acao\\_origem=arvore\\_visualizar&id\\_documento=3229356&infra\\_siste...](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador.php?acao=documento_imprimir_web&acao_origem=arvore_visualizar&id_documento=3229356&infra_siste...) 1/2





Documento assinado eletronicamente por **Paulo César de Freitas Santos Filho, Professor(a) do Magistério Superior**, em 07/07/2021, às 16:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Bresciani, Usuário Externo**, em 07/07/2021, às 16:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Samira Esteves Afonso Camargo, Usuário Externo**, em 07/07/2021, às 16:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2870831** e o código CRC **DC70B2D5**.

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho a toda minha família, amigos e a todos que de alguma maneira contribuíram para minha formação técnica e científica pelo Programa de Pós Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia.*

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar quero agradecer a Deus pela minha família, meus amigos e meus orientadores que de forma fizeram e fazem parte da minha trajetória pessoal e acadêmica até o presente momento e por todas as oportunidades que tem surgido na minha vida.

Quero agradecer a minha mãe M<sup>a</sup> Verônica dos Santos Lins, por todo apoio e parceria para que siga me tornando o que sonhamos juntos. Sou grato também pelo exemplo de ser humano, que mesmo com suas dificuldades e limitações fez o teu máximo pra me proporcionar condições para a minha formação profissional e como homem. O teu exemplo como uma profissional de saúde, que realiza tudo o que faz com humanização e maestria, me faz ter muito orgulho de ser seu filho e uma vontade enorme de ser como a senhora. Enfim, obrigado por ser minha amiga, minha parceira nos choros e nas alegrias, por me motivar quando achei que não conseguiria e por sempre sonhar junto comigo. Te amo muito!!!

A minha gratidão é enorme pela minha família. A participação da minha avó Adelina e do meu avô José Luiz foi essencial durante estes anos, não só pelo apoio neste período da universidade, mas desde sempre, meu muito obrigado por serem os melhores avós que alguém poderia querer. Vocês são incríveis!! Não poderia de falar também do meu tio Roberto Candeiro, Cláudia Candeiro e Adelino Carvalho por todo apoio antes e durante a minha formação. Obrigado por todo carinho, atenção e incentivo na busca de novos caminhos, novos aprendizados e de me capacitar não só para o mercado de trabalho, mas também para a vida. Vou levar sempre os ensinamentos de vocês comigo.

Obrigado também ao meu pai Luiz Cláudio Candeiro, que me ajudou e sempre torceu para o meu crescimento pessoal e profissional.

Em meio as dificuldades da pós graduação tive o privilégio de continuar amizades incríveis que vieram da graduação e também de conhecer pessoas maravilhosas que fizeram com tudo fosse mais leve. Muito obrigado Nilson Neto, Renata Vargas, Jéssica Bonvicini, Lais Carvalho, Kamila França, por me apoiarem, torcer e vibrar comigo em todos os momentos. Quero agradecer também no nome do Rafael Antônio, da Caroline Anselmi e do Igor, a todos do laboratório de Patologia experimental e Materiais dentários da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, por toda a atenção e carinho durante o período que estive com vocês. Meu carinho por vocês é enorme. Amo vocês amigos!!

O meu muito obrigado ao meu orientador Prof. Dr. Paulo César de Freitas Santos Filho, pela paciência e todos ensinamentos que contribuíram para o meu aperfeiçoamento profissional além de todas as oportunidades acadêmicas e científicas que me preparam para seguir a caminhada na academia. Sem dúvidas, meu muitíssimo obrigado ao Prof. Dr. Luiz Renato Paranhos pela compreensão, paciência, confiança e por me apresentar a linha de pesquisa que estamos trabalhando desde o final da minha graduação e que hoje eu tenho me encontrado a seguir pesquisando. Não posso deixar de agradecer a Prof. Dra. Ana Paula Turrioni, por todo conhecimento, compreensão e carinho neste período do mestrado depositada e todas as oportunidades geradas ao longo desde período. A todos os ensinamentos, oportunidades e paciência mais uma vez obrigado professores.

Por fim, meus agradecimentos a Universidade Federal de Uberlândia em nome do reitor Valder Steffen Júnior, aos funcionários da Faculdade de Odontologia em nome do diretor da instituição Prof. Dr. Sérgio Vitorino Cardoso, ao Prof. Dr. Carlos José Soares atual diretor do Hospital Odontológico da UFU, ao Centro de Pesquisa Odontológica, Biomecânica, Biomateriais e Biologia Celular e a ao Instituto de Ciências Biomédicas da UFU que permitiram a realização deste estudo, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais pelo fomento à pesquisa e apoio financeiro. E agradecer aos pacientes que tive a oportunidade atender e/ou acompanhar no Hospital Odontológico da UFU, por todo respeito, compreensão e principalmente pela confiança. Muito obrigado!!

## SUMÁRIO

Resumo	8
Abstract	9
1. Introdução e referencial teórico	11
2. Proposição	17
3. Capítulos	
3.1 Capítulo 1 - Efeito transdentário de agentes químico-mecânicos na citotoxicidade e produção de radicais livres por células pulpares	19
4. Considerações finais	37
5. Referências	39
6. Anexos	
6.1 Normas dos periódicos	46
6.2 Parecer emitido pelo Comitê de ética em pesquisa	50

## RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito citotóxico e produção de radicais livres por células pulpares humanas de dois agentes enzimáticos para remoção químico-mecânicos de tecido cariado. As células foram semeadas em placas de 24 poços (50.000 células/poço) e após 24 horas, um conjunto dispositivo metálico/disco de dentina (0,3mm de espessura)/anel de silicone foi inserido em cada poço. Os materiais foram aplicados de acordo com os grupos: controle sem material; peróxido de hidrogênio 35% por 2 minutos; PapacárieDuo (PD) por 30 segundos; PD por 2 minutos; Brix3000 (BX) por 30 segundos e BX por 2 minutos (n=8). Os testes de viabilidade (MTT), produção de óxido nítrico (ON, reagente de Griess) e produção de espécies reativas de oxigênio (EROs, sonda DCFH-DA) foram realizados 24 horas após a aplicação dos materiais. Os dados foram submetidos aos testes estatísticos *one-way* ANOVA complementado por Tukey ( $p < 0,05$ ). Para viabilidade celular, os grupos BX nos dois tempos não diferiram do controle ( $p > 0,05$ ), enquanto o grupo PD 30 segundos e 2 minutos apresentaram diminuição na viabilidade em 21,1% e 58,4% respectivamente ( $p < 0,05$ ). Quanto à quantificação de ON, não houve diferença estatística entre os diferentes grupos ( $p > 0,05$ ). Para a quantificação de EROs, os grupos PD 30 segundos e 2 minutos apresentaram um aumento de 171,2% e 75,1% respectivamente quando comparados ao controle ( $p < 0,05$ ). Concluiu-se que a ação transdentinária do material PD apresentou potencial citotóxico e aumento de produção de EROs por células pulpares, nos tempos de aplicação 30 segundos e 2 minutos.

**Palavras Chave:** Cárie dental; Espécies reativas de oxigênio; Materiais biocompatíveis; Morte celular.

## ABSTRACT

The aim of the study was to evaluate the cytotoxic effect and production of free radicals by human pulp cells of two enzymatic agents for chemical-mechanical removal of carious tissue. Cells were seeded in 24-well plates (50,000 cells/well) and after 24 hours, a metal device/dentin disc (3mm thick)/silicone ring assembly was inserted into each well. The materials were applied according to the groups: control without material; 35% hydrogen peroxide for 2 minutes; PapacárieDuo (PD) for 30 seconds; PD for 2 minutes; Brix3000 (BX) for 30 seconds and BX for 2 minutes (n=8). Viability tests (MTT), production of nitric oxide (ON, Griess reagent) and production of reactive oxygen species (ROS, probe DCFH-DA) were performed 24 hours after application of the materials. Data were submitted to *one-way* ANOVA statistical tests complemented by Tukey ( $p < 0.05$ ). For cell viability, the BX groups at both times did not differ from the control ( $p > 0.05$ ), while the PD group 30 seconds and 2 minutes showed a decrease in viability of 21.1% and 58.4% respectively ( $p < 0.05$ ). As for the quantification of NO, there was no statistical difference between the different groups ( $p > 0.05$ ). For the quantification of ROS, the 30-second and 2-minute PD groups showed an increase of 171.2% and 75.1% respectively when compared to the control ( $p < 0.05$ ). It was concluded that the transdentinal action of the PD material presented cytotoxic potential and increased production of ROS by pulp cells, at application times of 30 seconds and 2 minutes.

**Keywords:** dental caries; biocompatible materials; cell death; oxigen-reactive species.



# ***Introdução & Referencial***

---

***teórico***

## 1. INTRODUÇÃO E REFERÊNCIAL TEÓRICO

A cárie dental é a doença bucal mais comum e também mais evitável conhecida, sua prevalência em países subdesenvolvidos (Sengupta *et al.*, 2017; Kassebaum *et al.*, 2015; Bernabé & Sheiham 2014). Sua etiologia é multifatorial e dinâmica, resultante do desequilíbrio no ecossistema bucal, entre o biofilme dental, microorganismos dieta e, frequência de higienização (Nyvad *et al.*, 2013). Este desequilíbrio pode gerar a queda do pH e a dissolução dos cristais minerais presentes nos tecidos dentais, facilitando a aderência e progressão de microorganismos aos tecidos (Conrads & About, 2018; Fejerskov & Larsen, 2015; Pai *et al.*, 2009).

Em estudos precursores realizados para remoção de tecido cariado, foi sugerido por um pesquisador de acordo com a sua vivência clínica, que a remoção do tecido cariado deveria ser realizada até que o som fisiológico da dentina fosse atingido. Nos casos em que a cavidade fosse profunda, era recomendado a remoção total do tecido cariado, mesmo que isso pudesse expor o tecido pulpar (Black, 1908).

Na década de 1970, pesquisas identificaram e diferenciaram uma porção da lesão de cárie com grande quantidade microorganismos cariogênicos chamada de zona bacteriana e abaixo dela uma porção dentinária desmineralizada denominada desmineralizado interno. Porém, mesmo com essa descoberta houve pouca mudança no protocolo sugerido por Black para remoção do tecido cariado (Sato & Fusayama, 1976). Estudos posteriores, atualizaram os termos antes chamados de zona bacteriana para dentina infectada e o desmineralizado interno para dentina afetada e também se reconheceu a necessidade de remoção somente do infectado, pois o tecido desmineralizado e pouco infectado e era passível de remineralização, portanto poderia ser deixado na cavidade (Kuboki, *et al.*, 1983; Banerjee *et al.*, 2000). É importante ressaltar que, em cavidades profundas e muito profundas ainda há o risco de danos irreversíveis pulpares e em caso de remoção desse tecido cariado existe a possibilidade de exposições pulpares (Ricketts *et al.*, 2013; Pandit *et al.*, 2007; Barthel, *et al.*, 2000). Porém, estudos apontam que a previsibilidade tem apresentado altas taxas de

sucesso quando escolhida a técnica mais conservadora (Barros *et al.*, 2020; Al-Hiyasat *et al.*, 2006).

O tratamento restaurador atraumático (TRA) surgiu como uma técnica específica para remoção de tecido cariado e se tornou uma alternativa terapêutica viável que apresenta facilidade de execução clínica, baixo custo e dispensa eletricidade, utilizando apenas instrumentos manuais (AAPD, 2016; Lopez, *et al.*, 2005; Honkala, *et al.*, 2003; Smales, *et al.*, 2000). A escavação é realizada removendo-se o esmalte desmineralizado e a dentina amolecida até que a dentina “firme” seja sentida em lesões cariosas ativas. Para lesões que atingem a dentina o tecido cariado amolecido deve ser removido completamente e o tecido afetado mantido na parede pulpar para evitar a exposição da polpa. Para preservação de tecido dental, por meio da remoção seletiva de tecido cariado tem sido utilizada na odontologia como padrão ouro na rotina clínica, embora sua nomenclatura esteja sendo utilizada sem distinção para doença cárie, tecido cariado e a lesão cariosa (Schwendicke *et al.*, 2019; AAPD, 2016; Frencken, *et al.*, 2016). Embora o TRA possua diversas vantagens, o sucesso da técnica está diretamente associada a sensibilidade tátil do cirurgião dentista e do seu treinamento (De Medeiros Serpa, *et al.*, 2017; Hesse, *et al.*, 2016; Louw, *et al.*, 2002; Grossman, *et al.*, 2002)

Na odontologia atual, diferentes abordagens terapêuticas são discutidas sobre a cárie dental com a finalidade de preservar o máximo possível a estrutura dental, removendo apenas os tecidos com danos irreversíveis (Ammari, *et al.*, 2014; Anegundi *et al.* 2012; Tanboga, *et al.* 2011), assim é possível aumentar a longevidade do dente na boca (Schwendicke & Stolpe 2014) e evitar o ciclo restaurador (Elderton, 1993). Embora a remoção de tecido cariado por métodos mecânicos sejam técnicas rápidas e vastamente aceitas, diversas condutas terapêuticas alternativas têm apresentado resultados promissores na aplicabilidade clínica (Wong, 2018; Bjørndal *et al.*, 2017; Ntovas, *et al.*, 2017; Banerjee *et al.*, 2017; Maltz *et al.*, 2012; Anegundi *et al.* 2012).

Os agentes químico-mecânicos para remoção de tecido cariado,

surgiram a partir da utilização do hipoclorito de sódio em dentes cariados associado a instrumentos manuais (Goldman & Kronman, 1976). No entanto, a instabilidade química do hipoclorito e os danos gerados nos tecidos dentais saudáveis levaram os pesquisadores a testar uma nova solução composta de 0,05% de hipoclorito de sódio, cloreto de sódio, hidróxido de sódio, e glicerina, a GK101. Esta nova formulação devia ser manipulada e utilizada no momento exato do procedimento e sua aplicação era realizada, com aquecimento prévio a 37° C e com o auxílio de um equipamento de jato pulsátil. Este material se tornou comercial com o nome de Caridex (Watson & Kidd, 1986; Goldman & Kronman, 1976; Habib *et al.*, 1975). O sistema de aplicabilidade do Caridex™ (National Patent Medical Products Inc. New Jersey, USA) não obteve sucessos, pois havia a necessidade de equipamentos específicos, apresentava curta vida útil, além de outras limitações clínicas (Meinbach, 1990; Beeley, *et al.*, 2000). Pesquisadores buscaram eliminar as desvantagens apresentadas pelo Caridex™ e formularam o Carisolv™ (MediTeam Dentalutveckling AB, Savedelen Sweden) (Porto *et al.*, 2001). O Carisolv™ é um gel que possui na sua composição, hipoclorito de sódio, aminoácidos (ácido glutâmico, leucina e lisina), água e cloreto de sódio (Ericson, 1998). O hipoclorito de sódio age rompendo as ligações cruzadas entre as fibrilas de colágeno e por desnaturação pode amolecer ainda mais o tecido necrosado enquanto o colágeno íntegro não seja comprometido de maneira importante (Porto *et al.*, 2001; Haffner *et al.*, 1999).

Nos anos 2000 surgiu um novo agente químico-mecânico para remoção de tecido cariado, o Papacárie Duo® (Fórmula e Ação F&A, Laboratório Farmacêutico Ltda, São Paulo, SP, Brasil), com baixo custo e assim como o Carisolv facilitando a remoção do tecido cariado desnaturalizado, (Bussadori *et al.*, 2005; Pereira, *et al.*, 2004). A composição do Papacárie consiste em cloramina, azul de toluidina e papaína que é uma enzima extraída do mamão e tem como vantagens a sua estabilidade química e física, atividade enzimática e fácil acesso a matéria prima (Bussadori *et al.*, 2005). Alguns anos depois mais um agente químico-mecânico foi disponibilizado comercialmente, o Brix 3000™ (BRIX S.R.L. Província de Santa Fé,

Argentina), com indicações e protocolo clínico similares ao Papacárie Duo®. Segundo a sua bula o Brix 3000™ possui em sua composição papaína, propilenoglicol, pectina cítrica, trietanolamina, monolauratode sorbitano, fosfato dissódico, fosfato monopotássico, azul de toluidina e água destilada. Para realização da técnica de utilização estes materiais associam a instrumentos manuais sem corte e dispensam instrumentos e equipamentos elétricos para remoção do tecido cariado, podendo ser realizado inclusive em ambientes externos ao ambulatório odontológico (Jingarwar *et al.*, 2014; Hamama, *et al.*, 2014; Maragakis, *et al.*, 2001).

As técnicas alternativas para remoção de tecido cariado, diante do cenário pandêmico que nos encontramos podem se tornar terapias fundamentais desde o surgimento do novo coronavírus (To *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2020; Wax *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2020) levando os profissionais de odontologia a repensar seus protocolos clínicos e optar por terapias que não produzem e dispersam aerossóis, gotículas de saliva e fluidos orais no consultório odontológico, entre elas a remoção de tecido cariado (Al-Halabi *et al.*, 2020). A equipe de saúde bucal está altamente exposta aos riscos de contaminação e infecção com o SARS-CoV-2 e também oferecendo risco aos pacientes (Tonkaboni *et al.*, 2021; Innes *et al.*, 2021; Matys & Grzech-Leśniak, 2020; Eden *et al.*, 2020; Sabino-Silva *et al.*, 2020).

Os agentes químico-mecânicos, para remoção seletiva de tecido cariado além de preservar tecido dentinário saudável e promover maior conforto aos pacientes por não utilizar instrumentos rotatórios e ruídos gerados (Frencken *et al.*, 2016; Tyas, *et al.*, 2000), reduzem significativamente a produção e dispersão dos aerossóis (Meethil *et al.*, 2021; Deng *et al.*, 2018; Goomer *et al.*, 2013). Embora os agentes químico-mecânicos apresentem diversas vantagens clínicas, ainda são necessários ensaios que avaliem seus efeitos em células pulpares humanas em cavidades profundas. Diante deste contexto, o estudo e avaliação da aplicação indireta dos agentes químico-mecânicos utilizados na remoção seletiva de tecido cariado se torna importante para ciência do comportamento de células pulpares humanas após os protocolos de aplicação

destes materiais, auxiliando na elaboração de protocolos clínicos seguros e que mantenham a vitalidade pulpar.

# Proposição

---

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar a ação transdentinária de um novo agente para remoção químico-mecânica da cárie (Brix 3000™) quando comparado a outro agente químico (Papacárie Duo®).

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Avaliar a citotoxicidade transdentinária do Brix 3000™ e do Papacárie Duo® em células pulpares de dentes humanos;
- Analisar o comportamento indireto do Brix 3000™ e do Papacárie Duo® na produção de radicais livres em células pulpares de dentes humanos.



# ***Capítulos***

---

### 3.1 CAPÍTULO 1

---

#### **Transdental effect of chemical-mechanical agents on cytotoxicity and free radical production in pulp cells**

Artigo nas normas do periódico **Research, society and development**

**Qualis CAPES: A3**

#### **Fator de Impacto:**

Caio Luiz Lins Candeiro<sup>1</sup>, Nilson Ferreira de Oliveira Neto<sup>2</sup>, Ana Paula Turrioni<sup>2</sup>, Luiz Renato Paranhos<sup>1</sup>, Paulo César de Freitas Santos Filho<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Odontologia Preventiva e Social, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Odontopediatria, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Brasil.

<sup>3</sup> Departamento de Dentística Restauradora e Materiais Odontológicos, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Brasil.

#### **Autor de correspondência:**

Professor Luiz Renato Paranhos

Departamento de Odontologia Preventiva e Social

Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Uberlândia,

Campus Umuarama, Av. Pará, 1720, Bloco 2G, sala 1

ZIP code: 38405-320, Uberlândia, MG, Brasil

paranhos.lrp@gmail.com

## RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito citotóxico e produção de radicais livres por células pulpare humanas de dois agentes enzimáticos para remoção químico-mecânicos de tecido cariado. As células foram semeadas em placas de 24 poços (50.000 células/poço) e após 24 horas, um conjunto dispositivo metálico/disco de dentina (3mm de espessura)/anel de silicone foi inserido em cada poço. Os materiais foram aplicados de acordo com os grupos: controle sem material; peróxido de hidrogênio 35% por 2 minutos; PapacárieDuo (PD) por 30 segundos; PD por 2 minutos; Brix3000 (BX) por 30 segundos e BX por 2 minutos (n=8). Os testes de viabilidade (MTT), produção de óxido nítrico (ON, reagente de Griess) e produção de espécies reativas de oxigênio (EROs, sonda DCFH-DA) foram realizados 24 horas após a aplicação dos materiais. Os dados foram submetidos aos testes estatísticos *one-way* ANOVA complementado por Tukey ( $p < 0,05$ ). Para viabilidade celular, os grupos BX nos dois tempos não diferiram do controle ( $p > 0,05$ ), enquanto o grupo PD 30 segundos e 2 minutos apresentaram diminuição na viabilidade em 21,1% e 58,4% respectivamente ( $p < 0,05$ ). Quanto à quantificação de ON, não houve diferença estatística entre os diferentes grupos ( $p > 0,05$ ). Para a quantificação de EROs, os grupos PD 30 segundos e 2 minutos apresentaram um aumento de 171,2% e 75,1% respectivamente quando comparados ao controle ( $p < 0,05$ ). Concluiu-se que a ação transdentinária do material PD apresentou potencial citotóxico e aumento de produção de EROs por células pulpare, nos tempos de aplicação 30 segundos e 2 minutos.

**Palavras Chave:** Cárie dental; Espécies reativas de oxigênio; Materiais biocompatíveis; Morte celular.

## ABSTRACT

The aim of the study was to evaluate the cytotoxic effect and production of free radicals by human pulp cells of two enzymatic agents for chemical-mechanical removal of carious tissue. Cells were seeded in 24-well plates (50,000 cells/well) and after 24 hours, a metal device/dentin disc (3mm thick)/silicone ring assembly was inserted into each well. The materials were applied according to the groups: control without material; 35% hydrogen peroxide for 2 minutes; PapacárieDuo (PD) for 30 seconds; PD for 2 minutes; Brix3000 (BX) for 30 seconds and BX for 2 minutes (n=8). Viability tests (MTT), production of nitric oxide (ON, Griess reagent) and production of reactive oxygen species (ROS, probe DCFH-DA) were performed 24 hours after application of the materials. Data were submitted to *one-way* ANOVA statistical tests complemented by Tukey ( $p < 0.05$ ). For cell viability, the BX groups at both times did not differ from the control ( $p > 0.05$ ), while the PD group 30 seconds and 2 minutes showed a decrease in viability of 21.1% and 58.4% respectively ( $p < 0.05$ ). As for the quantification of NO, there was no statistical difference between the different groups ( $p > 0.05$ ). For the quantification of ROS, the 30-second and 2-minute PD groups showed an increase of 171.2% and 75.1% respectively when compared to the control ( $p < 0.05$ ). It was concluded that the transdental action of the PD material presented cytotoxic potential and increased production of ROS by pulp cells, at application times of 30 seconds and 2 minutes.

**Keywords:** dental caries; biocompatible materials; cell death; oxygen-reactive species.

## RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto citotóxico y la producción de radicales libres por las células pulpares humanas de dos agentes químico-mecánicos para la eliminación de tejido cariado. Las células se sembraron en placas de 24 pocillos (50.000 células / pocillo) y, después de 24 horas, se insertó un dispositivo de metal / disco de dentina / anillo de goma en cada pocillo. Los materiales se aplicaron según los grupos: control sin material; Peróxido de hidrógeno al 35% 2 minutos; PapacarieDuo (PD) 30 segundos; PD 2 minutos; Brix3000 (BX) 30 segundos y BX 2 minutos (n = 8). Las pruebas de viabilidad (MTT), la producción de óxido nítrico y la producción de especies reactivas de oxígeno se realizaron 24 horas después de la aplicación de los materiales. Los datos fueron sometidos a pruebas estadísticas ANOVA *one-way* complementadas por Tukey ( $p < 0.05$ ). Para la viabilidad celular, los grupos BX en los dos momentos no difirieron del control ( $p > 0.05$ ), mientras que el grupo de DP a 30 segundos y 2 minutos mostró una disminución en la viabilidad de 21.1% y 58.4% respectivamente ( $p < 0.05$ ). En cuanto a la cuantificación de NO, no hubo diferencia estadística entre grupos ( $p > 0.05$ ). Para la cuantificación de ROS, los grupos de DP de 30 segundos y 2 minutos mostraron un aumento del 171,2% y 75,1% respectivamente en comparación con el control ( $p < 0,05$ ). Se concluyó que la acción transdental de la EP mostró potencial citotóxico y aumento de la producción de ROS por las células pulpares, en tiempos de aplicación de 30 segundos y 2 minutos.

**Palabras clave:** caries dental; especies reactivas al oxígeno; materiales biocompatibles; muerte celular.

## 1. INTRODUÇÃO

Com o surgimento do novo coronavírus (SARS-CoV-2), muitos países foram impactados direta e indiretamente em diversos setores da sociedade (Yang, *et al.*, 2020). A maneira que o vírus se comporta no organismo e a facilidade de transmissão, como o contato direto com o vírus ou por gotículas de saliva e aerossóis, contribuíram para que este vírus se tornasse um problema de saúde pública mundial (To *et al.*, 2020; Wax *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2020).

Os profissionais da odontologia estão altamente expostos ao risco de contaminação, além de ser vetor de transmissão (Sabino-Silva *et al.*, 2020). Os procedimentos odontológicos podem produzir aerossóis e dispersar gotículas de fluidos orais, apresentando riscos potenciais de dispersão microorganismos patogênicos no consultório ou contaminando e facilitando infecções da equipe odontológica e dos pacientes (Tonkaboni *et al.*, 2021; Innes *et al.*, 2021; Matys Grzech-Leśniak, 2020; Eden *et al.*, 2020; Sabino-Silva *et al.*, 2020). Com isso, o uso de técnicas odontológicas menos invasivas, com o objetivo de minimizar o risco de contaminação devem ser consideradas, sendo uma opção a remoção seletiva do tecido cariado (Al-Halabi *et al.*, 2020).

A remoção seletiva do tecido cariado (RSTC) apresenta elevada taxa de sucesso (Al-Hiyasat *et al.*, 2006; Barros *et al.*, 2020). A RSTC propõe a remoção do tecido cariado dentinário infectado, que está amolecido e apresenta uma abundante população bacteriana, sendo preservado apenas o tecido afetado pela cárie que encontra-se desmineralizado, porém passível de remineralização (Ricketts *et al.*, 2018; Schwendicke, 2017). Assim é possível diminuir os riscos de exposição pulpar (Barros *et al.*, 2020; Pereira *et al.*, 2020), visto que quanto mais profunda a lesão pior o prognóstico (Bjørndal *et al.*, 2017). Além da dificuldade de diagnóstico, muitas vezes o Cirurgião-Dentista utiliza instrumentos rotatórios em alta rotação que podem gerar uma quantidade considerável de aerossóis (Chen *et al.*, 2020, Jones & Brosseau, 2015).

Dentre as técnicas de RSTC, a utilização de agentes químico-mecânicos apresenta facilidade de manuseio, baixo custo e redução de produção de aerossóis (Deng *et al.*, 2018; Goomer *et al.*, 2013). Apesar de suas vantagens, possíveis ações citotóxicas ao tecido pulpar provocadas por estes agentes, assim como a produção de estresse oxidativo em células pulpares foram pouco estudadas e podem ser determinantes na tomada de decisão profissional para o tratamento de lesões de cárie extensas e profundas que podem comprometer a vitalidade pulpar (Szczurko *et al.*, 2018). Neste contexto, a avaliação indireta dos agentes utilizados para remoção seletiva químico-mecânica de tecido cariado sobre células humanas da polpa dental se faz importante para suprir a carência na literatura de estudos que identificam possíveis danos irreversíveis a polpa, permitindo ao cirurgião dentista informações necessárias para a tomada de decisão no tratamento de lesões profundas causadas pela cárie, evitando a intervenção endodôntica radical. Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito transdentinário de removedores químico-mecânicos de cárie na citotoxicidade e produção de radicais livres por células pulpares humanas. As hipóteses testadas foram: 1) os agentes removedores químico-mecânicos de tecido cariado testados diminuem a viabilidade celular e; 2) os agentes removedores químico-mecânicos influenciam na produção de radicais livres produzidos por fibroblastos da polpa dental humana.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### Tipo de estudo e Critérios éticos

Trata-se de um estudo laboratorial *in vitro*. As recomendações CRIS (Checklist for Reporting *In vitro* Studies) para descrição do estudo foram seguidas. Todos os preceitos éticos relacionados a pesquisa envolvendo seres humanos foram respeitados (CAAE 07067018.4.0000.5152) e um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi obtido de cada doador.

### Seleção e preparo da amostra

Foram utilizados 135 discos de dentina de molares permanentes humanos hígidos, doados após exodontias realizadas no Hospital Odontológico da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia (HO-UFU), com indicação clínica e radiográfica. Os dentes doados que apresentavam lesões de cárie, restaurações, fraturas, trincas e anomalias não foram utilizados neste estudo, assim como dentes decíduos e discos de dentina que apresentavam comunicação com os cornos pulpares.

Após as extrações, os elementos dentais foram higienizados, sendo realizada a raspagem com uma cureta periodontal e gaze umedecida com água destilada para remoção dos fragmentos periodontais e limpeza da coroa dental. Logo em seguida, os dentes foram armazenados, sob refrigeração, em um recipiente de vidro com tampa contendo água destilada por até 2 meses para serem utilizados.

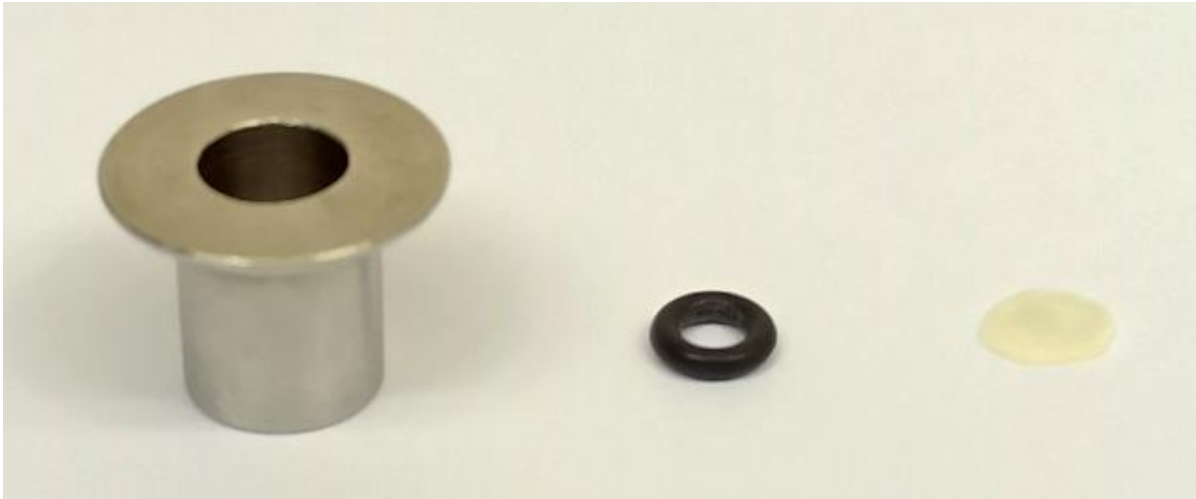
Foi realizada a secção dos dentes em uma máquina de corte (Isomet1000; Buehler Ltd, Lake Bluff, IL) com um disco diamantado (Diamound Wafering Blade. #3041201 - 4" x.012 X 1/2" - 102 mm x 0,3 mm x 127 mm Odeme Dental Research, Miami, FL, USA), no sentido méso-distal planejando a superfície da coroa. Depois de remover a superfície oclusal irregular com sulcos e cúspides, foi realizada uma nova secção afim de confeccionar discos dentinários com espessura de 0,3 mm, simulando o remanescente dentinário de uma cavidade profunda. Sobre as superfícies dos discos, foi realizado o polimento com lixas de papel nas granulações 400 e 600 e em seguida estes discos foram submetidos à desinfecção com imersão em álcool a 70% por pelo menos 6 horas (Hanks, *et al.*, 1989), seguido da aplicação da solução de EDTA trissódico (Biodinâmica, Ibiporã, Paraná, Brasil) por 60 segundos com o objetivo de remover a *smear layer*, sendo logo após, as superfícies lavadas com água deionizada por 60 segundos (Costa and Hanks, 1998). Os discos foram armazenados em solução PBS estéril (PBS, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) sob refrigeração por até 15 dias. Os discos que apresentavam comunicação dos cornos pulpares, trincas e fraturas foram descartados do estudo (Huck *et al.*, 2016).

### **Condutância Hidráulica**

A condutância hidráulica foi determinada pela permeabilidade dentinária, por meio do deslocamento de uma bolha de ar presente no sistema durante os períodos de 15 e 30 segundos, através da fórmula  $L_p = J_v / A \cdot \Delta P \cdot t$ , onde "Lp" é a condutância hidráulica ( $\mu\text{L cm}^{-2} \text{ min}^{-1} \text{ cm H}_2\text{O}^{-1}$ ), "Jv" é o volume de fluido em  $\mu\text{L}/\text{mm}$ , "A" é a área de superfície da dentina ( $\text{cm}^2$ ), " $\Delta P$ " é a pressão hidrostática em  $\text{cm H}_2\text{O}$  e "t" é o tempo necessário para o movimento do fluido (min) (Outhwaite WC, 1974). Concluída esta análise, os discos foram distribuídos nos grupos experimentais, de modo que não apresentassem diferença estatisticamente significativa entre os valores numéricos médios obtidos.

### **Dispositivos metálicos para suporte dos discos de dentina**

Com a finalidade de reproduzir *in vitro* (de forma mais próxima possível) a condição clínica, foram confeccionadas, em aço inox, dispositivos específicos que permitiam a suspensão dos discos de dentina no compartimento da placa de cultura, favorecendo a aplicação dos materiais na face oclusal, sendo a face pulpar mantida em contato direto com o meio de cultura que nutria as células pulpares. (Figura 1). Previamente ao protocolo de aplicação dos materiais o dispositivo e o anel de borracha foram esterilizados sob vapor e pressão (Autoclave de bancada, Phoenix Lufarco, Araraquara, São Paulo, Brasil) e os discos desinfetados *over night* em álcool 70%.



**Figura 1.** Dispositivo metálico, anel de borracha e disco de dentina (0,3mm).

### **Cultura celular**

Células pulpaes humanas da 7<sup>a</sup> à 9<sup>a</sup> passagem foram obtidas por meio de explante tecidual (Patil *et al.*, 2018; Hendijani, 2017) a partir de terceiros molares humanos extraídos com indicação clínica no HO-UFU. Para o cultivo das células foi utilizado DMEM (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) suplementado com 10% Soro fetal bovino (Gibco, Grand Island, NY, USA) e 1% antibiótico (Penicilina) em condições atmosféricas de 37°C e 5% CO<sub>2</sub> até atingir confluência.

### **Protocolo de aplicação**

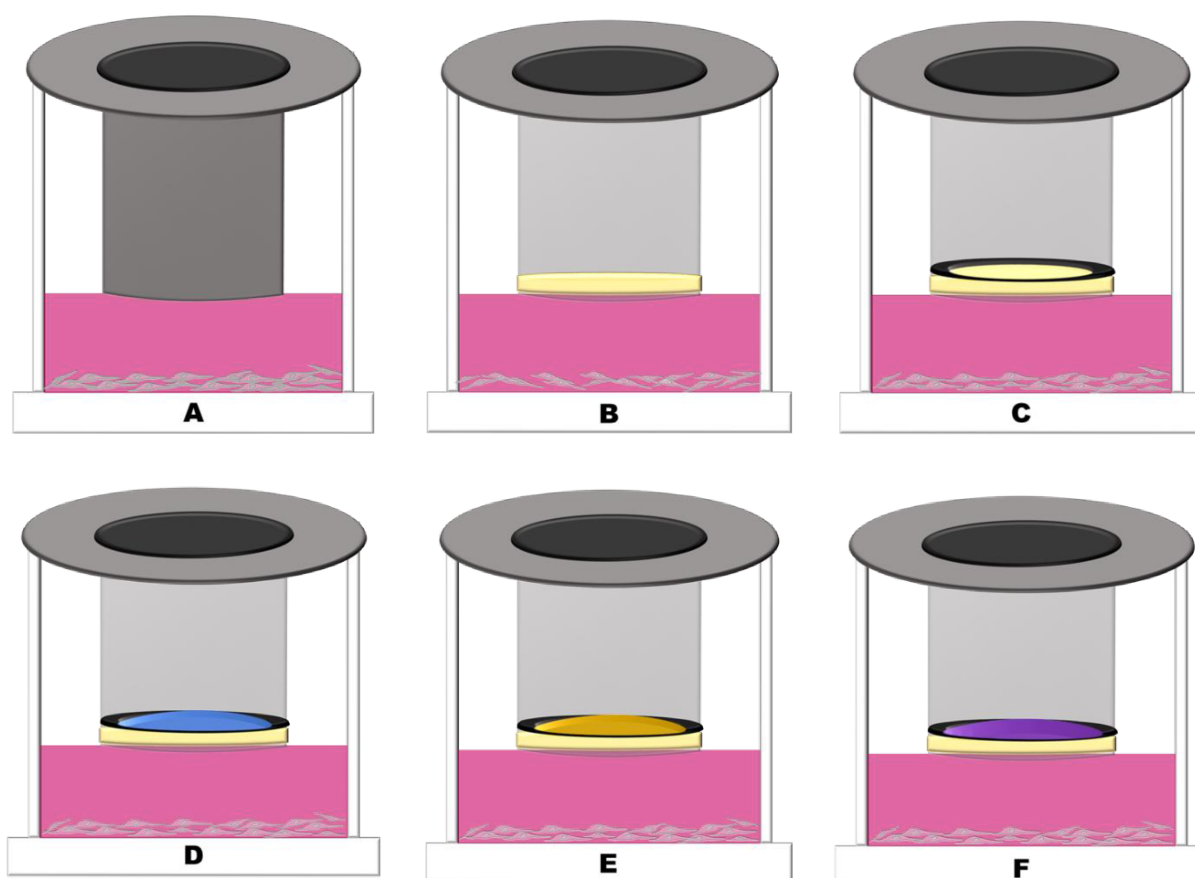
Dois agentes químico-mecânicos enzimáticos para remoção seletiva de tecido cariado foram aplicados 0,2ml sobre o disco de dentina acoplado ao dispositivo metálico, em diferentes tempos (Tabela 1), sendo o Papacárie Duo™ - PD (Fórmula e Ação F&A, Laboratório Farmacêutico Ltda, São Paulo, SP, Brasil) e Brix 3000™ - BX (BRIX S.R.L. Província de Santa Fé, Argentina). Estes agentes são à base de papaína, enzima proteolítica presente no látex das folhas e frutos de mamões adultos e o mais recente Brix 3000 (Bussadori *et al.*, 2005; Bastos *et al.*, 2019). O material Peróxido de Hidrogênio 35% (FGM, Joinville, Santa Catarina, Brasil.) foi utilizado como controle negativo para viabilidade celular. Os materiais foram aplicados no diâmetro interno dos anéis de borracha para que não houvesse extravasamento para o meio de cultura. Após a aplicação em seus respectivos tempos, os materiais foram aspirados com uma ponta de sucção descartável para endodontia (SS plus, Maringá, Paraná, Brasil), sendo a superfície oclusal dos discos lavadas com o auxílio de uma bolinha de algodão estéril embebida em solução tampão estéril (PBS, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) para remoção de possíveis resíduos do material sobre os discos dentinários. Os testes foram realizados após 24 horas da aplicação dos materiais. A sequência de montagem do dispositivo e do protocolo experimental (Figura 2) foi realizado em dois diferentes momentos.



<i>Grupos</i>	<i>Especificações</i>
<b>DMEM</b>	DMEM
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 35%</b>	Peróxido de Hidrogênio a 35% aplicado por 2 minutos
<b>PD 30s</b>	Papacárie Duo aplicado por 30 segundos
<b>BX 30s</b>	Brix 3000 aplicado por 30 segundos
<b>PD 2min</b>	Papacárie Duo aplicado por 2 minutos
<b>BX 2min</b>	Brix 3000 aplicado por 2 minutos

**Tabela 1:** Descrição dos grupos e tempos de aplicação.

Distribuição dos grupos experimentais com seus respectivos materiais e tempos de aplicação.



**Figura 2.** Protocolo da utilização do dispositivo metálico e aplicação dos materiais Papacárie Duo® e Brix 3000: **A)** adaptação do dispositivo no poço da placa; **B)** inserção do disco de dentina no interior do dispositivo metálico; **C)** inserção do anel de borracha sobre o disco de dentina no interior do dispositivo metálico e para o grupo DMEM seguiu o mesmo protocolo; **D)** aplicação do material Papacárie Duo; **E)** aplicação do material Brix 3000 e; **F)** aplicação do peróxido de hidrogênio a 35%.

## **Viabilidade celular**

### ***Ensaio de viabilidade metabólica celular (MTT)***

A determinação da viabilidade celular foi obtida por meio do ensaio de metil-tetrazólio (MTT), o qual busca determinar a atividade da enzima desidrogenase succínica que está associada a atividade metabólica das células. Em cada compartimento da placa de 24 poços, foi adicionado 900 µL de DMEM sem soro fetal bovino e 100 µL de solução de MTT (5 mg/mL em PBS-Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO,

EUA). Após quatro horas na incubadora a 5% CO<sub>2</sub> e 37°C, o sobrenadante foi removido e 300 µL de dimetilsulfóxido (DMSO, LGC Biotecnologia, Cotia, São Paulo, Brasil) foi adicionado a cada compartimento para que houvesse dissolução dos cristais de formazan produzidos. Na sequência, transferiu-se 100 µL de cada amostra para uma placa de 96 poços (Costar Corp, Cambridge, MA, EUA) e a densidade óptica foi mensurada por espectrofotômetro (Thermo Plate, Shenzhen, China) utilizando filtro de 570 nm.

## **Mediadores inflamatórios**

### ***Espécies reativas de oxigênio (EROS)***

A avaliação quantitativa da produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) foi realizada utilizando os valores da intensidade de fluorescência emitida pelas amostras após utilização da sonda 2',7'-diacetato de diclorodihidrofluoresceína (DCFH-DA; InvitroGen, San Diego, CA, EUA). O meio de cultura foi removido e 300 µL de solução contendo a sonda fluorescente (5 µmol/L de PBS) foi adicionada a cada poço. Após 30 minutos, as amostras foram lavadas 2 vezes com PBS e submetidas ao equipamento leitor de microplacas multimodal de fluorescência GLOMAX® (Promega Corporation, São Paulo, Brasil) para obtenção dos dados quantitativos. As imagens das amostras para análise qualitativa foram produzidas pelo microscópio de fluorescência EVOS FL Cell Imaging System (Thermo Fisher Scientific, São Paulo, SP, Brasil).

### ***Quantificação de óxido nítrico (ON)***

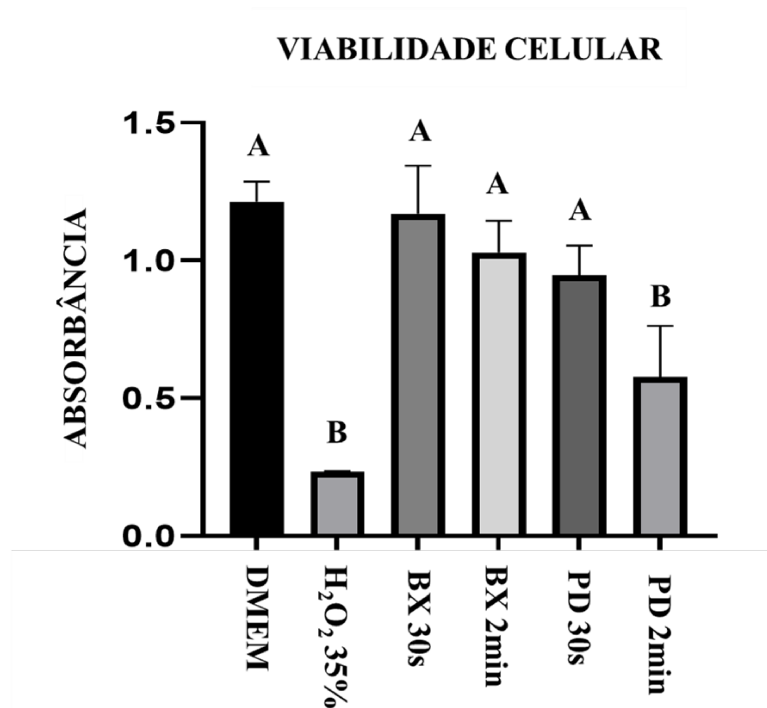
Para este teste foi utilizado o sobrenadante de cada amostra da cultura celular. O nítrito se forma pela reação de diazotação com o reagente de Griess, composto de 1g de sulfanilamida (Merck KGaA, Darmstadt, HE, Alemanha), 0,1 g de dicloreto de N (1-naftil) etilenodiamina (Merck KGaA, Darmstadt, HE, Alemanha), 2,5 ml de ácido ortofosfórico (MallinckrodtChemical, St. Louis, MO, EUA) e 100 ml de água deionizada. Foram adicionados 100 µL do sobrenadante de cada amostra (em triplicata) e 100 µL de reagente de Griess, em uma placa de 96 compartimentos e a absorbância foi aferida após 10 minutos de incubação em temperatura ambiente em espectrofotômetro (ThermoPlate, Shenzhen, China) com filtro de 540nm.

## **Análise dos dados**

Os dados obtidos nos testes inicialmente foram tabulados no *software* Microsoft Excel versão 2016, posteriormente exportados para o programa estatístico GraphPad Prism 9 e submetidos os testes estatísticos paramétricos ANOVA *one-way* para correlação entre os grupos, complementados por Tukey utilizados para a análise, considerando nível de significância de 5%.

## **3. RESULTADOS**

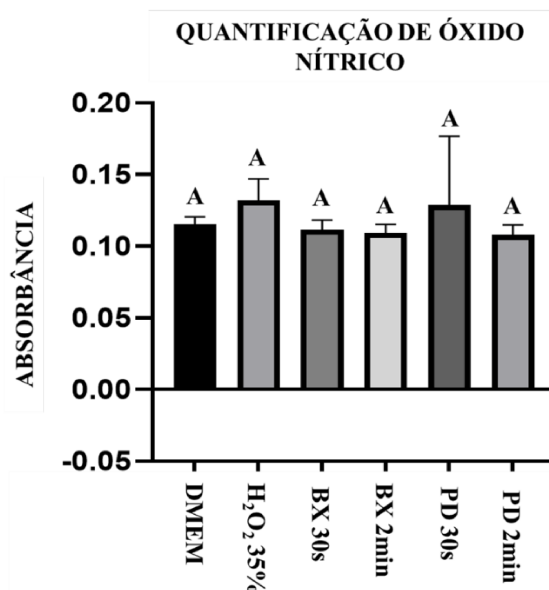
Para a viabilidade celular, a Figura 3 apresenta os resultados valores absolutos de absorbância, considerando os grupos experimentais, controle positivo e negativo dos materiais utilizados no estudo.



**Figura 3.** Viabilidade celular, em valores absolutos de absorbância, considerando os grupos experimentais e controles de materiais utilizados no estudo (ANOVA *one-way*). Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significante ( $p < 0,05$ , Teste de Tukey),  $n=8$ .

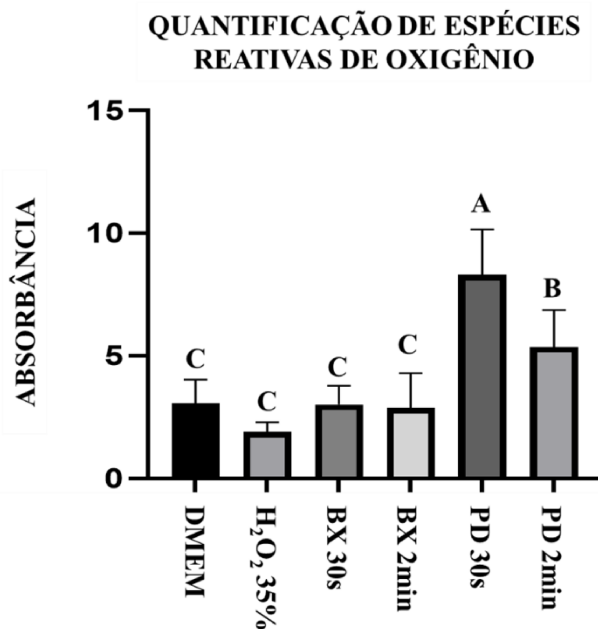
Foi possível observar que os grupos BX 30s, BX 2min e o grupo PD 30s não diferiram do grupo DMEM ( $p > 0,05$ ), enquanto o grupo PD 2min apresentou diminuição na viabilidade em 58,4% ( $p < 0,001$ ). O grupo PD 2min não apresentou diferença estatística com o grupo peróxido de hidrogênio ( $p > 0,05$ ). Assim, o material Brix 3000 não apresentou citotoxicidade enquanto o material Papacárie Duo gerou mais morte celular no tempo de 2 minutos.

A Figura 4 apresenta os resultados da quantificação de óxido nítrico e a Figura 5 a quantificação da produção de espécies reativas de oxigênio (valores absolutos de absorbância), considerando os grupos experimentais. A avaliação qualitativa da produção de EROS para cada grupo experimental está representada pela Figura 6.

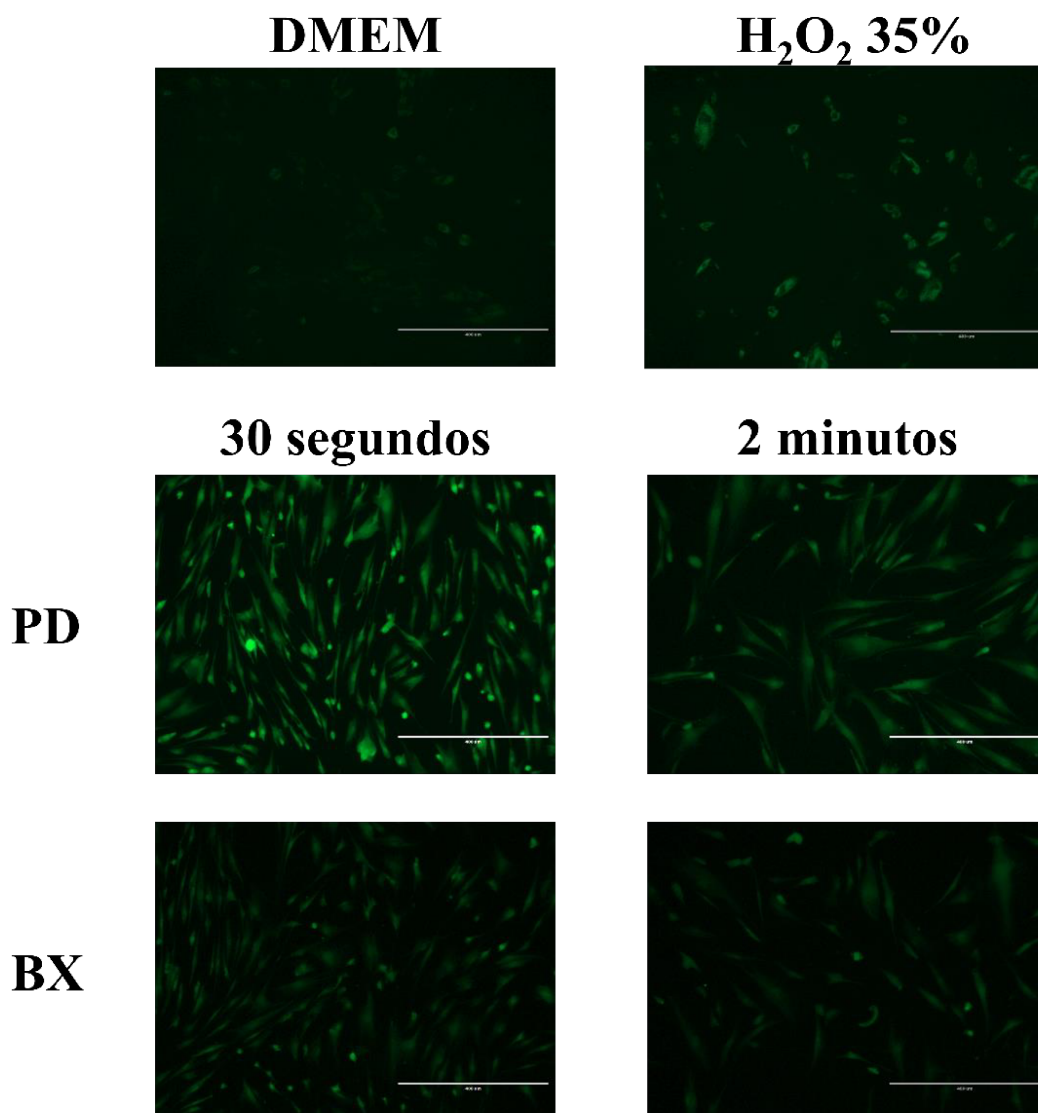


**Figura 4.** Quantificação de óxido nítrico em valores absolutos de absorbância, considerando os grupos experimentais e controles de materiais utilizados no estudo (ANOVA *one-way*). Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ , Teste de Tukey),  $n=8$ .

Para a quantificação de ON, não houve diferença estatística entre os diferentes grupos ( $p > 0,05$ ), mesmo comparando os materiais testados ( $p = 0,3841$ ) e tempos de aplicação ( $p = 0,5521$ ). Já para a quantificação de EROS, os grupos PD 30s e PD 2min apresentaram maior fluorescência emitida pelas células pulpares, com 171,2% ( $p < 0,001$ ) e 75,1% respectivamente quando comparados aos demais grupos experimentais que não diferiram estatisticamente.



**Figura 5.** Quantificação de espécies reativas de oxigênio, em valores absolutos de absorbância, considerando os grupos experimentais (ANOVA *one-way*). Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ , Teste de Tukey),  $n=8$ .



**Figura 6.** Imagens da fluorescência emitida pelas células pulpare, pela produção de EROS, gerada após aplicação dos diferentes materiais utilizados no estudo, no aumento de 10x (Microscópio de Fluorescência EVOS FL Cell Imaging System; escala, 400  $\mu$ m).

Na avaliação qualitativa de EROS, foi observado células pulpare apresentando maior intensidade de fluorescência para os grupos PD 30s e PD 2min, enquanto os grupos BX 30s e BX 2min apresentam baixa intensidade de fluorescência como no grupo DMEM, reforçando os dados quantitativos encontrados. O grupo peróxido de hidrogênio 35% também apresenta células com intensa fluorescência e em processo de morte celular, sugerindo que a diminuição da viabilidade celular esteja associada a um intenso estresse oxidativo produzido pelas EROS.

#### 4. DISCUSSÃO

Após a análise dos resultados quantitativos e qualitativos os autores rejeitaram a primeira hipótese, pois o material Papacárie Duo, no tempo de 2 minutos, apresentou redução importante na

viabilidade celular em contrapartida, o Brix 3000 não diferiu do DMEM (controle positivo para viabilidade celular). Os autores também rejeitaram a segunda hipótese visto o material Papacárie Duo demonstrou nos dois tempos de aplicação aumento na quantificação de EROs, enquanto o material Brix não apresentou alteração significativa nas mesmas variáveis.

Em virtude da pandemia e da forma que o Sars-cov-2 se transmite, diversos procedimentos odontológicos precisaram ser adaptados ou novas técnicas foram adotadas para que a produção e dispersão de aerossóis no ambiente clínico fosse reduzida o máximo possível (Sharma & Jain, 2020; Chen *et al.*, 2020). Dentre estes procedimentos, para a remoção seletiva de tecido cariado o uso de broca carbide pode ser substituída pela técnica restauradora atraumática, em que o tecido é removido com o auxílio de instrumentos manuais (Saber, *et al.*, 2019; Dorri *et al.*, 2017; Carvalho, *et al.*, 2009). Assim, a utilização de materiais químico-mecânicos, podem facilitar o procedimento, principalmente para os profissionais de odontologia que atuam em ambiente ambulatorial e hospitalar.

A literatura apresenta diversos estudos, que assim como este, buscam identificar o comportamento das células da polpa humana em contato direto ou indireto com um agente químico, mecânico ou por traumatismo, a fim de fornecer resultados para a realização e acompanhamento de ensaios clínicos (Ersahan *et al.*, 2020; Li JY *et al.*, 2020; Rodrigues *et al.*, 2019). Sendo assim, para este estudo foram utilizadas células pulpares humanas cultivadas *in vitro*.

O teste de MTT para avaliar a viabilidade celular foi adotado pelos pesquisadores deste estudo pois ele é um dos principais testes utilizados para esta finalidade e apresenta resultados fidedignos (Liu *et al.*, 2020). A análise da viabilidade celular consiste no número de células metabolicamente ativas em uma população celular determinada e mensura a proliferação celular. A resposta deste teste indica a morte ou a preservação do metabolismo celular após exposição direta ou indireta a um agente químico ou a algum fármaco e materiais odontológicos (Liu *et al.*, 2020; Chung *et al.*, 2017; Adan *et al.*, 2016; Borra *et al.*, 2009). A redução acentuada da viabilidade de células pulpares humanas pode resultar perda da vitalidade pulpar, por necrose, sendo necessária intervenção endodôntica radical (Szczerko *et al.*, 2018).

Os achados pelo teste de viabilidade celular (MTT) apontam que o material Papacárie Duo® apresentou potencial citotóxico, em sua concentração total. Dados que corroboram aos achados deste estudo foram apontados por outros pesquisadores, quando em concentrações menores e aplicados de forma direta, este material diminuiu a viabilidade celular sobre células da polpa e outros tipos celulares. (Garcia-Contreras *et al.*, 2014; Bastos *et al.*, 2019, Santos *et al.*, 2020), diferente de um estudo em que não houve redução significativa de viabilidade celular (Martins *et al.*, 2009). É importante considerar a espessura do remanescente dentinário após o preparo cavitário (Costa *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2003), assim como sua permeabilidade tecidual, visto que esses fatores são fundamentais na difusão transdentinária dos compósitos destes materiais (Huang *et al.*, 2010). Além disso, dentes de paciente jovens que possuem duas ou mais raízes tendem a responder a uma agressão para sua autorreparação com maior facilidade, diferente dos dentes unirradiculares. Isto pode ocorrer, visto que dentes birradiculares e multirradiculares possuem uma quantidade maior de células, aporte nervoso e vascular quando comparados aos pacientes idosos (Maeda, 2020; Allen & Whitworth, 2004; Murray *et al.*, 2002).

Estudos avaliando a produção de ON e EROS não foram encontrados na literatura para demonstrar o comportamento das células pulpares humanas após aplicação destes materiais, seja de forma direta ou indireta. As células da polpa dental expressam abundantemente ON, durante os processos inflamatórios (Mei *et al.*, 2007; Felaco *et al.*, 2000; Di Nardo Di Maio *et al.*, 2004). O Papacárie Duo® e o Brix 3000 não apresentaram diferença estatística dos demais grupos, sugerindo que estes materiais não estimulam processos pró inflamatórios mediados por espécies reativas de nitrogênio. O ON é altamente reativo, porém possui uma curta duração (Knowles, 1996; Förstermann *et al.*, 1994). Esta molécula gasosa sinalizadora está envolvida na regulação de diversos processos metabólicos no nosso organismo e possui propriedades citotóxicas nos tecidos (Park *et al.*, 2014; Ding, 2009; Korhonen *et al.*, 2005), porém após a aplicação dos materiais, a análise quantitativa do ON neste estudo aponta que os materiais, nos dois tempos de aplicação não diferiram dos demais grupos experimentais.

Em relação a produção de EROs, o Papacárie Duo, nos dois tempos de aplicação, produziu uma quantidade maior enquanto o Brix obteve resultados semelhantes ao grupo controle para viabilidade celular (DMEM). A alta concentração de EROs nos tecidos podem gerar ação pró-inflamatória (Yu, 2017), além disso, em um processo inflamatório ou estresse oxidativo celular, uma alta concentração de ROS pode dificultar o autorreparo tecidual (Karu, 2010) e também pode ativar enzimas pro-apoptóticas, resultando em morte celular (Borutaite, 2010). Em concentrações menores as EROs podem estimular a vasodilatação como resposta frente a uma inflamação, participar na expressão de citocinas e estimular também diferenciação celular (Holder, 2012). Diante disso, para espessura remanescente dentinário de 0,3mm, sugere que o Papacárie Duo apresentou um potencial pró-inflamatório.

O conhecimento do comportamento dos materiais odontológicos são fundamentais para prática clínica do cirurgião dentista e para isso eles devem ser testados a fim de avaliar suas propriedades benéficas e também o seu potencial lesivo, nos tecidos mineralizados e também na polpa dental. Assim o cirurgião dentista poderá deve conhecer o comportamento dos materiais por ele utilizados afim de definir a melhor conduta clínica para cada tipo de tratamento e condições disponíveis para realização deste procedimento.

Vale ressaltar que este estudo não está isento de limitações, por ser um estudo laboratorial *in vitro* e ainda são escassos estudos que avaliam o potencial inflamatório e suas vias metabólicas, após utilização destes materiais. Mais estudos são necessários na literatura acerca do comportamento de células da polpa humana, vias inflamatórias e alterações químicas e mecânicas do tecido dentinário remanescente afim de para embasar outros ensaios *in vitro* e conduzir estudos clínicos utilizando agentes químico-mecânicos, para determinação de protocolos seguros para a utilização ambulatorial, hospitalar e também em ambientes além do consultório, facilitando o acesso ao tratamento odontológico pelos serviços públicos de atenção à saúde bucal, sem a necessidade de eletricidade.

## 5. CONCLUSÃO

O Papacárie Duo apresentou maior citotoxicidade e gerou maior estresse oxidativo em células pulpares, após aplicação indireta, quando comparado ao Brix 3000. Ambos os materiais não estimularam a produção de óxido nítrico.

## Referências

- Adan A., Kiraz Y. & Baran, Y. (2016). Cell Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 17(14), 1213-1221. doi: 10.2174/1389201017666160808160513.
- Al-Halabi, M., Salami, A., Alnuaimi, E., Kowash, M. & Hussein, I. (2020). Assessment of paediatric dental guidelines and caries management alternatives in the post COVID-19 period. A critical review and clinical recommendations. *European Academy of Paediatric Dentistry*, 21(5), 543-556. doi: 10.1007/s40368-020-00547-5.
- Al-Hiyasat A. S., Barrieshi-Nusair, K. M. & Al-Omari, M. A. (2006). The radiographic outcomes of direct pulp-capping procedures performed by dental students: a retrospective study. *Journal of the American Dental Association*, 137, 1699-1705.
- Allen, P. F. & Whitworth, J. M. (2004). Endodontic considerations in the elderly. *Gerodontology*, 21(4), 185-94. doi: 10.1111/j.1741-2358.2004.00039.x
- Barros, M. M. A. F., De Queiroz Rodrigues, M. I., Muniz, F. W. M. G., & Rodrigues, L. K. A. (2020). Selective, stepwise, or nonselective removal of carious tissue: which technique offers lower risk for the treatment of dental caries in permanent teeth? A systematic review and meta-analysis. *Clinical Oral Investigations*, 24(2), 521-532. doi: 10.1007/s00784-019-03114-5.
- Bastos, L. A., Silva, F. L., Thomé, J. P. Q., Arnez, M. F. M., Faccioli, L. H., & Paula-Silva, F. W. G. (2019). Effects of Papain-Based Gel Used For Caries Removal on Macrophages and Dental Pulp Cells. *Brazilian Dental Journal*, 30(5), 484-490. doi: 10.1590/0103-6440201902560

- Bjørndal, L., Fransson, H., Bruun, G., Markvart, M., Kjældgaard, M., Näsman, P., Hedenbjörk-Lager, A., Dige, I., & Thordrup, M. (2017). Randomized Clinical Trials on Deep Carious Lesions: 5-Year Follow-up. *Journal of Dental Research*, 96(7), 747-753. doi: 10.1177/0022034517702620
- Borra, R. C., Lotufo, M. A., Gagiotti, S. M., Barros, F. M. & Andrade, P. M. (2009). A simple method to measure cell viability in proliferation and cytotoxicity assays. *Brazilian Oral Research*, 23(3), 255-62. doi: 10.1590/s1806-83242009000300006.
- Borutaite, V. (2010). Mitochondria as decision-makers in cell death. *Environmental and molecular mutagenesis*, 51(5), 406-416. doi: 10.1002/em.20564.
- Bussadori, S. K., Martins, M. D., Fernandes, K. P. S., Guedes C. C., Motta, L. J. Redá, S. H., & Santos, E. M.. Avaliação da Biocompatibilidade" in vitro" de um Novo Material Para a Remoção Química e Mecânica da Cárie-Papacárie. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, v. 5, n. 3, p. 253-259, 2005.
- Carvalho, T. S., Ribeiro, T. R., Bönecker, M., Pinheiro, E. C., & Colares, V. (2009). The atraumatic restorative treatment approach: an "atraumatic" alternative. *Medicina oral, patologia oral y cirugía bucal*, 1(14), 668-673. doi: 10.4317/medoral.14.e668.
- Chen, J. L., (2020). Pathogenicity and transmissibility of 2019-nCoV—a quick overview and comparison with other emerging viruses. *Microbes and Infection*, 22(2), 69-71. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2020.01.004>
- Chung, S., Kim, S. H., Seo, Y., Kim, S. K., & Lee, J. Y. (2017). Quantitative analysis of cell proliferation by a dye dilution assay: Application to cell lines and cocultures. *Cytometry*, 91(7), 704-712. doi: 10.1002/cyto.a.23105.
- Costa, C. A. S., & Hanks, C.T. (1998) Capacity of L 929 and BALB/C 3T7 fibroblasts to survive on human dentin discs. *Braz Endod J*, 3, 7-13.
- Costa, C.A., Ribeiro, A. P., Giro, E. M., Randall, R. C. & Hebling, J. (2011). Pulp response after application of two resin modified glass ionomer cements (RMGICs) in deep cavities of prepared human teeth. *Dental materials*, 27:e, 158-170.
- Deng, Y., Feng, G., Hu, B., Kuang, Y. & Song, J. (2018). Effects of Papacarie on children with dental caries in primary teeth: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 28(4), 361-372. doi: 10.1111/ipd.12364.
- Di Nardo Di Maio, F., Lohinai, Z., D'Arcangelo, C., De Fazio, P. E., Speranza, L., De Lutiis, M. A., Patruno, A., Grilli, A., & Felaco, M. (2004). Nitric oxide synthase in healthy and inflamed human dental pulp. *Journal of Dental Research*, 83(4), 312-6. doi: 10.1177/154405910408300408.
- Ding, J. F. (2009). The effect of nitric oxide on the proliferation and ALP activity of human dental pulp cells in vitro. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*, 18(3), 320-3.
- Dorri, M., Martinez-Zapata, M. J., Walsh, T., Marinho, V. C., Sheiham Deceased, A., & Zaror, C. (2017). Atraumatic restorative treatment versus conventional restorative treatment for managing dental caries. *The Cochrane database of systematic reviews*, 12(12), CD008072. doi: 10.1002/14651858.CD008072.pub2.
- Eden, E., Frencken, J., Gao, S., Horst, J. A., & Innes, N. (2020). Managing dental caries against the backdrop of COVID-19: approaches to reduce aerosol generation. *British Dental Journal*, 229(7), 411-416. doi: 10.1038/s41415-020-2153-y.
- Ersahan, S., Oktay, E. A., Sabuncuoğlu, F. A., Karaoglanoglu, S., Aydın, N., & Suloglu A. K. (2020). Evaluation of the cytotoxicity of contemporary glass-ionomer cements on mouse fibroblasts and human dental pulp cells. *European Archives of Paediatric Dentistry*, 21(3), 321-328. doi: 10.1007/s40368-019-00481-1.
- Felaco, M., Di Maio, F. D., De Fazio, P., D'Arcangelo, C., De Lutiis, M. A., Varvara, G., Grilli, A., Barbacane, R. C., Reale, M., & Conti, P. (2020). Localization of the e-NOS enzyme in endothelial cells and odontoblasts of healthy human dental pulp. *Life sciences*, 68(3), 297-306. doi: 10.1016/s0024-3205(00)00935-8.
- Förstermann, U., Closs, E. I., Pollock, J. S., Nakane, M., Schwarz, P., Gath, I., & Kleinert, H. (1994). Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension*, (6 Pt 2), 1121-1131. doi: 10.1161/01.hyp.23.6.1121. PMID: 7515853.
- Fusayama, T. (1979). Two layers of carious dentin; diagnosis and treatment. *Operative dentistry*, 4, 63-70.
- Garcia-Contreras, R., Scougall-Vilchis, R. J., Contreras-Bulnes, R., Kanda, Y., Nakajima, H., & Sakagami, H. (2014). Cytotoxicity and pro-inflammatory action of chemomechanical caries-removal agents against oral cells. *In vivo*, 28(4), 549-556.
- Goomer, P., Jain, R. L., Kaur, H., & Sood, R. (2013). Comparison of the efficacy of chemico-mechanical caries removal with conventional methods - a clinical study. *Journal of international oral health*, 5(3), 42-47.
- Hanks, C. T., Diehl, M. L., Craig, R. G., Makinen, P. K. & Pashley, D. H. (1989). Characterization of the "in vitro pulp chamber" using the cytotoxicity of phenol. *Journal of oral pathology & medicine*, 18(2), 97-107.
- Hendijani, F. (2017). Explant culture: An advantageous method for isolation of mesenchymal stem cells from human tissues. *Cell proliferation*, 50(2), e12334. doi: 10.1111/cpr.12334.
- Holder, M. J., Milward, M. R., Palin, W. M., Hadis, M. A., & Cooper, P. R. (2012). Effects of red light-emitting diode irradiation on dental pulp cells. *Journal of dental research*, 91(10), 961-966. doi: 10.1177/0022034512456040.



- Huang, F. M., Li, Y. C., Lee, S. S., & Chang, Y. C. (2010). Cytotoxicity of dentine bonding agents on human pulp cells is related to intracellular glutathione levels. *International endodontic journal*, 43, 1091-1097.
- Huck, C., Campos, E. A., Soares, D. G., Hebling, J., Scheffel, D. L. S., & Costa, C. A. S. (2016). Cytotoxic effects of a bleaching gel with different concentrations of hydrogen peroxide applied directly on dentin. *Revista Odontológica do Brasil Central*, 25(2), 88-93.
- Innes, N., Johnson, I. G., Al-Yaseen, W., Harris, R., Jones, R., Kc, S., McGregor, S., Robertson, M., Wade, W. G., & Gallagher, J. E. (2021). A systematic review of droplet and aerosol generation in dentistry. *Journal of dentistry*, 105, 103556. doi: 10.1016/j.jdent.2020.103556.
- Jones, R. M., & Brosseau, L. M. (2015). Aerosol transmission of infectious disease. *Journal of occupational and environmental medicine*, 57(5), 501-508. <https://doi.org/10.1097/JOM.0000000000000448>
- Karu, T. I. (2010) Multiple roles of cytochrome C oxidase in mammalian cells under action of red and IR-A radiation. *IUBMB Life*, 62, 607-610.
- Knowles, R. G. (1996) Nitric oxide synthases. *Biochemical Society transactions*, 24(3), 875-8. doi: 10.1042/bst0240875.
- Korhonen, R., Lahti, A., Kankaanranta, H., & Moilanen, E. (2005). Nitric oxide production and signaling in inflammation. *Current drug targets, Inflammation and allergy*, 4(4), 471-9. doi: 10.2174/1568010054526359.
- Li, J. Y., Wang, S. N., & Dong, Y. M. (2020). Anti-inflammatory and repaired effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on human dental pulp cells. *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 52(1), 24-29. doi: 10.19723/j.issn.1671-167X.2020.01.004.
- Liu, Y., Liu, X. M., Bi, J., Yu, S., Yang, N., Song, B., & Chen, X. (2020). Cell migration and osteo/odontogenesis stimulation of iRoot FS as a potential apical barrier material in apexification. *International endodontic journal*, (4), 467-477. doi: 10.1111/iej.13237.
- Maeda, H. (2020). Aging and Senescence of Dental Pulp and Hard Tissues of the Tooth. *Frontiers in cell and developmental biology*, (8), 605996. doi: 10.3389/fcell.2020.605996.
- Martins, M. D., Fernandes, K. P., Motta, L. J., Santos, E. M., Pavesi, V. C., & Bussadori, S. K. (2009). Biocompatibility analysis of chemomechanical caries removal material Papacárie on cultured fibroblasts and subcutaneous tissue. *Journal of dentistry for children*, 76, 123-129.
- Matys, J., & Grzech-Leśniak, K. (2020). Dental Aerosol as a Hazard Risk for Dental Workers. *Materials*, 13(22), 5109. doi: 10.3390/ma13225109.
- Mei, Y. F., Yamaza, T., Atsuta, I., Danjo, A., Yamashita, Y., Kido, M. A., Goto, M., Akamine, A., & Tanaka, T. (2007). Sequential expression of endothelial nitric oxide synthase, inducible nitric oxide synthase, and nitrotyrosine in odontoblasts and pulp cells during dentin repair after tooth preparation in rat molars. *Cell and tissue research*, 328(1), 117-127. doi: 10.1007/s00441-005-0003-5.
- Murray, P. E., Stanley H. R., Matthews J. B., Sloan A. J., & Smith A. J. (2002). Age-related odontometric changes of human teeth. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 93, 474-482. doi: 10.1067/moe.2002.120974
- Outhwaite, W. C., Mckenzie, D. M. & Pashley, D. H. (1974). A versatile splitchamber device for studing dentin permeability. *Journal of dental research*, 53(6), 1503.
- Park, M. Y., Jeong, Y. J., Kang, G. C., Kim, M. H., Kim, S. H., Chung, H. J., Jung, J. Y., & Kim, W. J. (2014). Nitric oxide-induced apoptosis of human dental pulp cells is mediated by the mitochondria-dependent pathway. *The Korean journal of physiology & pharmacology*, 18(1), 25-32. doi: 10.4196/kjpp.2014.18.1.25.
- Patil, V. R., Kharat, A. H., Kulkarni, D. G., Kheur, S. M., & Bhonde, R. R. (2018). Long term explant culture for harvesting homogeneous population of human dental pulp stem cells. *Cell biology international*, 42(12), 1602-1610. doi: 10.1002/cbin.11065.
- Pereira, J. T., Knorst, J. K., Ardenghi, T. M., Piva, F., Imparato, J. C. P., Olegário, I. C., Hermoza, R. A. M., Armas-Vega, A. D. C., & de Araujo F. B. (2021). Pulp Vitality and Longevity of Adhesive Restorations Are Not Affected by Selective Carious Removal: A Multicenter Clinical Trial. *Caries research*, 55(1), 55-62. doi: 10.1159/000510698.
- Ricketts, D., Innes, N., & Schwendicke, F. (2018). Selective Removal of Carious Tissue. *Monographs in oral Science*, 27, 82-91. doi: 10.1159/000487838.
- Rodrigues, E. M., Cornélio, A. L. G., Godoi, P. H., da Costa, P. I., Rossa-Junior, C., Faria, G., Guerreiro Tanomaru, J. M., Tanomaru-Filho, M. (2019). Heparin is biocompatible and can induce differentiation of human dental pulp cells. *International endodontic journal*, 52(6), 829-837. doi: 10.1111/iej.13061.
- Saber, A. M., El-Housseiny, A. A., & Alamoudi, N. M. (2019). Atraumatic restorative treatment and interim therapeutic restoration: a review of literature. *Dentistry journal*, 7(1), 28-38. doi: 10.3390/dj7010028.
- Sabino-Silva, R., Jardim, A. C. G., & Siqueira, W. L. (2020). Coronavirus COVID-19 impacts to dentistry and potential salivary diagnosis. *Clinical oral investigations*, 24(4), 1619-1621. doi: 10.1007/s00784-020-03248-x.

- Santos, T. M. L., Bresciani, E., Matos, F. S., Camargo, S. E. A., Hidalgo, A. P. T., Rivera, L. M. L., Bernardino, I. M., & Paranhos, L. R. (2020). Comparison between conventional and chemomechanical approaches for the removal of carious dentin: an in vitro study. *Scientific reports*, 10(1), 8127. doi: 10.1038/s41598-020-65159-x.
- Schwendicke, F. (2017). Contemporary concepts in carious tissue removal: A review. *Journal of esthetic and restorative dentistry*, 29(6), 403-408. doi: 10.1111/jerd.12338.
- Sharma, A., & Jain, M. B. (2020). Pediatric Dentistry during Coronavirus Disease-2019 Pandemic: A Paradigm Shift in Treatment Options. *International journal of clinical pediatric dentistry*, 13(4), 412-415. doi: 10.5005/jp-journals-10005-1809.
- Silva, L. R., Tonolli, G., Santos, E. M. & Bussadori, S. K. (2003) Avaliação da biocompatibilidade in vitro de um novo biomaterial para a remoção, químico-mecânica da cárie. *Pesquisa Odontológica Brasileira*, 17, 93.
- Szczurko, G., Pawińska, M., Łuczaj-Cepowicz, E., Kierklo, A., Marczuk-Kolada, G., & Hołownia, A. (2018). Effect of root canal sealers on human periodontal ligament fibroblast viability: ex vivo study. *Odontology*, 106(3), 245-256. doi: 10.1007/s10266-017-0329-y.
- To, K. K., Hung, I. F., Ip, J. D., Chu, A. W., Chan, W. M., Tam, A. R., Fong, C. H., Yuan, S., Tsoi, H. W., Ng, A. C., Lee, L. L., Wan, P., Tso, E., To, W. K., Tsang, D., Chan, K. H., Huang, J. D., Kok, K. H., Cheng, V. C., & Yuen, K. Y. (2020). COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-coronavirus-2 strain confirmed by whole genome sequencing. *Clinical infectious diseases*, 25, ciaa1275. doi: 10.1093/cid/ciaa1275.
- Tonkaboni, A., Amirzade-Iranaq, M. H., Ziaei, H., & Ather. (2021). Impact of COVID-19 on Dentistry. *Advances in experimental medicine and biology*, 1318, 623-636. doi: 10.1007/978-3-030-63761-3\_34.
- Wax, R. S., & Christian, M. D. (2020). Practical recommendations for critical care and anesthesiology teams caring for novel coronavirus (2019-nCoV) patients. *Canadian journal of anaesthesia*, 67(5), 568-576. doi: 10.1007/s12630-020-01591-x.
- Yang, T., Liu, Y., Deng, W., Zhao, W., & Deng, J. SARS-Cov-2 trajectory predictions and scenario simulations from a global perspective: a modelling study. *Scientific reports*, 10(1), 18319. doi: 10.1038/s41598-020-75332-x.
- Yu, F. T. H., Chen, X., Straub, A. C., & Pacella, J. J. (2017). The Role of Nitric Oxide during Sonoreperfusion of Microvascular Obstruction. *Theranostics*, 7(14), 3527-3538. doi: 10.7150/thno.19422.

#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de agentes removedores químico-mecânicos de tecido cariado podem ser considerado neste atual momento pandêmico para auxiliar no procedimento e reduzir a produção e dispersão de aerossóis no ambiente odontológico. Além disso, são alternativas viáveis para auxiliar o cirurgião dentista na oferta de assistência odontológica externamente ao ambiente ambulatorial.

Os materiais Papacárie Duo® e Brix 3000™ podem ser utilizados na remoção seletiva de tecido cariado, levando em consideração a extensão e profundidade da lesão gerada pela cárie dental. Em condições *in vitro*, buscando reproduzir as condições reais de uma cavidade muito profunda o Brix 3000™ apresentou menor citotoxicidade e menor estresse oxidativo que o Papacárie Duo®. Em virtude das limitações deste estudo, sugerimos para determinação de um protocolo clínico seguro, que novos estudos são necessários para avaliar diferentes profundidades cavitárias, o comportamento de diferentes tipos celulares da polpa dental humana e qual o efeito do material sobre os tecidos mineralizados, após a aplicação direta e indireta destes materiais.

# ***Referências***

---

## 5. REFERÊNCIAS

Sengupta K, Christensen LB, Mortensen LH, Skovgaard LT, Andersen I. Trends in socioeconomic inequalities in oral health among 15-year-old Danish adolescents during 1995-2013: A nationwide, register-based, repeated cross-sectional study. **Community Dent Oral Epidemiol.** 2017;45(5):458-468. doi: 10.1111/cdoe.12310.

Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJ, Marcenes W. Global burden of untreated caries: a systematic review and metaregression. **J Dent Res.** 2015;94(5):650-658. doi: 10.1177/0022034515573272.

Bernabé E, Sheiham A. Age, period and cohort trends in caries of permanent teeth in four developed countries. **Am J Public Health.** 2014;104(7):e115-121. doi: 10.2105/AJPH.2014.301869.

Nyvad B, Crielaard W, Mira A, Takahashi N, Beighton D. Cárie dentária de uma perspectiva microbiológica molecular. **Caries Res.** 2013;47,89-102.

Conrads G, About I. Pathophysiology of Dental Caries. **Monogr Oral Sci.** 2018;27:1-10. doi: 10.1159/000487826.

Fejerskov O, Larsen MJ. **Demineralization and remineralization: the key to understanding clinical manifestations of dental caries.** In Fejerskov O, Nyvad B, Kidd E, editors, *Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management*. Third Edition ed. Oxford: Wiley-Blackwell. 2015. p. 155-170.

Pai VS, Nadig RR, Jagadeesh T, Usha G, Karthik J, Sridhara K. Análise química de superfícies de dentina após tratamento com carisolv. **J Conserv Dent.** 2009;12:118–122.

Black GV. **The Technical Procedures in Filling Teeth, A Work on Operative Dentistry.** Chicago: Medico-Dental Publishing; 1908.

Sato Y, Fusayama T. Removal of dentin by fuchsin staining. **J Dent Res.** 1976;55:678-683.

Kuboki Y, Liu CF, Fusayama T. Mechanism of differential staining in carious dentin. **J Dent Res.** 1983;62(6):713-714. doi: 10.1177/00220345830620060401.

Banerjee A, Kidd EA, Watson TF: In vitro evaluation of five alternative methods of carious dentine excavation. **Caries Res.** 2000;34: 144–150.

Ricketts D, Lamont T, Innes NP, Kidd E, Clarkson JE: Operative caries management in adults and children. **Cochrane Database Syst Rev.** 2013;3:CD003808.

Pandit IK, Srivastava N, Gugnani N, Gupta M, Verma L. Various methods of caries removal in children: a comparative clinical study. **J Indian Soc Pedod Prev Dent.** 2007;25(2):93-96. doi: 10.4103/0970-4388.33456.

Barthel CR, Rosenkranz B, Leuenberg A, Roulet JF: Pulp capping of carious exposures: treatment outcome after 5 and 10 years: a retrospective study. **J Endod.** 2000;26:525–528.

Barros MMAF, De Queiroz Rodrigues MI, Muniz FWMG, Rodrigues LKA. Selective, stepwise, or nonselective removal of carious tissue: which technique offers lower risk for the treatment of dental caries in permanent teeth? A systematic review and meta-analysis. **Clinical Oral Investigations.** 2020;24(2):521-532. doi: 10.1007/s00784-019-03114-5.

Al-Hiyasat AS, Barrieshi-Nusair KM, Al-Omari MA. The radiographic outcomes of direct pulp-capping procedures performed by dental students: a retrospective study. **J Am Dent Assoc.** 2006;137:1699–1705.

American Academy on Pediatric Dentistry (AAPD). Guideline on restorative dentistry. **Pediatr. Dent.** 2016;38:250–262.

Lopez N, Simpser-Rafalin S, Berthold P. Atraumatic Restorative Treatment for Prevention and Treatment of Caries in an Underserved Community. **Am J Public Health**. 2005;95:1338–1339.

Honkala E, Behbehani J, Ibricevic H, Kerosuo E, Al-Jame G. The atraumatic restorative treatment (ART) approach to restoring primary teeth in a standard dental clinic. **Int J Pediatr Dent**. 2003;13:172–179.

Smales R, Yip H. The atraumatic restorative treatment (ART) approach for primary teeth: Review of literature. **Pediatr Dent**. 2000;22:294–298.

Schwendicke F, Splieth C, Breschi L, Banerjee A, Fontana M, Paris S, Burrow MF, Crombie F, Page LF, Gatón-Hernández P, Giacaman R, Gugnani N, Hickel R, Jordan RA, Leal S, Lo E, Tassery H, Thomson WM, Manton DJ. When to intervene in the caries process? An expert Delphi consensus statement. **Clin Oral Investig**. 2019;23(10):3691-3703. doi: 10.1007/s00784-019-03058-w.

Frencken JE, Innes NP, Schwendicke F. Managing carious lesions: why do we need consensus on terminology and clinical recommendations on carious tissue removal? **Adv Dent Res**. 2016;28:46–48.

De Medeiros Serpa E, Clementino M, Granville-Garcia A, Rosenblatt A. The effect of atraumatic restorative treatment on adhesive restorations for dental caries in deciduous molars. **J Indian Soc Pedod Prev Dent**. 2017;35:167–173.

Hesse D, Bonifácio C, Bönecker M, Guglielmi Cde A, da Franca C, van Amerongen W, Colares V, Raggio D. Survival Rate of Atraumatic Restorative Treatment (ART) Restorations Using a Glass Ionomer Bilayer Technique with a Nanofilled Coating: A Bi-center Randomized Clinical Trial. **Pediatr Dent**. 2016;38:18–24.

Louw A, Sarvan, I, Chikte U, Honkala E. One-year evaluation of atraumatic restorative treatment and minimum intervention techniques on primary teeth. **S Afr Dent J**. 2002;57: 366–371.

Grossman E, Mickenautsch S. Microscope observations of ART excavated cavities and restorations. **S Afr Dent J**. 2002;57:359–363.



Ammari MM, Moliterno LFM, Junior RH, Séllos MC, Soviero VM. Eficácia da remoção quimiomecânica de cárie na redução da microbiota cariogênica: um ensaio clínico randomizado. **Braz Oral Res**. 2014;28:1-6.

Anegundi RT, Patil SB, Tegginmani V, Shetty SD. A comparative microbiological study to assess caries excavation by conventional rotary method and a chemo-mechanical method. **Contemp Clin Dent**. 2012;3(4):388-392. doi: 10.4103/0976-237X.107420.

Tanboga I, Eren F, Altınok B, Peker S, Ertugral F. O efeito da terapia a laser de baixo nível na dor durantePreparo dentário da cavidade dentária em crianças. **Eur Arch Paediatr Dent**. 2011;12:93–95.

Schwendicke F, Stolpe M. Direct pulp capping after a carious exposure versus root canal treatment: a cost-effectiveness analysis. **J Endod**. 2014;40(11):1764-1770. doi: 10.1016/j.joen.2014.07.028.

Elderton RJ. Overtreatment with restorative dentistry: when to intervene? **Int Dent J**. 1993 Feb;43(1):17-24.

Wong YJ. Caries removal using lasers. **Evid Based Dent**. 2018;19(2):45. doi: 10.1038/sj.ebd.6401303.

Bjørndal L, Fransson H, Bruun G, Markvart M, Kjældgaard M, Näsman P, Hedenbjörk-Lager A, Dige I, Thordrup M. Randomized Clinical Trials on Deep Carious Lesions: 5-Year Follow-up. **J Dent Res**. 2017;96(7):747-753. doi: 10.1177/0022034517702620.

Ntovas P, Doukoudakis S, Tzoutzas J, Lagouvardos P. Evidence provided for the use of oscillating instruments in restorative dentistry: A systematic review. **Eur J Dent**. 2017;11: 268–273.

Banerjee A, Frencken JE, Schwendicke F, Innes NPT. Contemporary operative caries management: consensus recommendations on minimally invasive caries removal. **Br Dent J**. 2017;11:223(3):215-222. doi: 10.1038/sj.bdj.2017.672.

Maltz M, Garcia R, Jardim JJ, de Paula LM, Yamaguti PM, Moura MS, Garcia F, Nascimento C, Oliveira A, Mestrinho HD. Randomized trial of partial vs. stepwise caries removal: 3-year follow-up. **J Dent Res**. 2012;91(11):1026-1031. doi: 10.1177/0022034512460403.

Goldman M, Kronman JH. A preliminary report on a chemomechanical means of removing caries. **J Am Dent Assoc**. 1976;93:1149-1153.

Watson RF, Kidd EA. The "caridex" caries removal system symposium in Boston. **Br Dent J**. 1986;161:461-2.

Habib CM, Kronman J, Goldman M. A chemical evaluation of collagen and hydroxyproline after treatment with GK-101 (N-chloroglycine). **Pharm Ther Dent**. 1975; 2:209-215.

Meinbach E. A chemomechanical caries removal system: painless dentistry versus procedural inconveniences. **Dent**. 1990;10:10-12.

Beeley JA, Yip HK, Stevenson AG. Chemochemical caries removal: a review of the techniques and latest developments. **Braz Dent J**. 2000;188(8):427-430.

Porto CLA, Bandeira MFCL, Pozzobon RT. Carisolv: nova alternativa de tratamento da dentina cariada: relato de caso clínico. **J Bras Clin Estet Odontol**. 2001;5(25):70-73.

Ericson D. In vitro efficacy of a new gel for chemo-mechanical caries removal. **J Dent Res**. 1998;77:1252.

Haffner C, Benz C, Folwaczny M, Hilckel R. Chemomechanical caries removal: a clinical study. **Caries Res**. 1999;33:312-313.

Bussadori SK, Castro LC, Galvão AC. Papain gel: a new chemo-mechanical caries removal agente. **J Clin Pediatr Dent**. 2005;30(2):115-119.

Pereira AS, Silva LR, Motta LJ, Bussadori SK. Remoção química de cárie por meio do gel papacárie. **RGO**. 2004;52:385-388.

Jingarwar MM, Bajwa NK, Pathak A. Minimal Intervention Dentistry—A New Frontier in Clinical Dentistry. **J Clin Diagn Res**. 2014;8:ZE04–ZE08.

Hamama HH, Yiu C, Burrow MF. Current update of chemomechanical caries removal methods. **Aust Dent J**. 2014;59:446–456.

Maragakis G, Hahn P, Hellwig E. Chemomechanical caries removal: A comprehensive review of the literature. **Int Dent J**. 2001;51:291–299.

To KK, Hung IF, Ip JD, Chu AW, Chan WM, Tam AR, Fong CH, Yuan S, Tsoi HW, Ng AC, Lee LL, Wan P, Tso E, To WK, Tsang D, Chan KH, Huang JD, Kok KH, Cheng VC, Yuen KY. COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-coronavirus-2 strain confirmed by whole genome sequencing. **Clin Infect Dis**. 2020;25: ciaa1275. doi: 10.1093/cid/ciaa1275.

Yang T, Liu Y, Deng W, Zhao W, Deng J. SARS-Cov-2 trajectory predictions and scenario simulations from a global perspective: a modelling study. **Sci Rep**. 2020;10(1):18319. doi: 10.1038/s41598-020-75332-x.

Wax RS, Christian MD. Practical recommendations for critical care and anesthesiology teams caring for novel coronavirus (2019-nCoV) patients. **Can J Anaesth**. 2020;67(5):568-576. doi: 10.1007/s12630-020-01591-x.

Chen JL. Pathogenicity and transmissibility of 2019-nCoV—a quick overview and comparison with other emerging viruses. **Microbes Infect**. 2020;22(2):69-71. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2020.01.004>

Al-Halabi, M., Salami, A., Alnuaimi, E., Kowash, M. & Hussein, I. Assessment of paediatric dental guidelines and caries management alternatives in the post COVID-19 period. A critical review and clinical recommendations. **Eur Arch Paediatr Dent**. 2020;21(5):543-556. doi: 10.1007/s40368-020-00547-5.

Tonkaboni A, Amirzade-Iranaq MH, Ziaei H, Ather. Impact of COVID-19 on Dentistry. **Adv Exp Med Bio**. 2021;1318, 623-636. doi: 10.1007/978-3-030-

63761-3\_34.

Innes N, Johnson IG, Al-Yaseen W, Harris R, Jones R, Kc S, McGregor S, Robertson M, Wade WG, Gallagher JE. A systematic review of droplet and aerosol generation in dentistry. **J Dent**. 2021;105:103556. doi: 10.1016/j.jdent.2020.103556.

Matys J, Grzech-Leśniak K. Dental Aerosol as a Hazard Risk for Dental Workers. **Materials**. 2020;13(22):5109. doi: 10.3390/ma13225109.

Eden E, Frencken J, Gao S, Horst JA, Innes N. Managing dental caries against the backdrop of COVID-19: approaches to reduce aerosol generation. **Br Dent J**. 2020;229(7):411-416. doi: 10.1038/s41415-020-2153-y.

Sabino-Silva R, Jardim ACG, Siqueira WL. Coronavirus COVID-19 impacts to dentistry and potential salivary diagnosis. **Clin Oral Investig**. 2020;24(4):1619-1621. doi: 10.1007/s00784-020-03248-x.

Tyas MJ, Anusavice KJ, Frencken JE, Mount GJ. Minimal intervention dentistry – a review. FDI Commission Project 1–97. **Int Dent J**. 2000;50(1):1–12.

Meethil AP, Saraswat S, Chaudhary PP, Dabdoub SM, Kumar PS. Sources of SARS-CoV-2 and Other Microorganisms in Dental Aerosols. **J Dent Res**. 2021;12:220345211015948. doi: 10.1177/00220345211015948.

Deng Y, Feng G, Hu B, Kuang Y, Song J. Effects of Papacarie on children with dental caries in primary teeth: a systematic review and meta-analysis. **Int J Paediatr Dent**. 2018;28(4): 361-372. doi: 10.1111/ipd.12364.

Goomer P, Jain RL, Kaur H, Sood R. Comparison of the efficacy of chemomechanical caries removal with conventional methods - a clinical study. **J Int Oral Health**. 2013;5(3):42-47.

## 6. ANEXO

### 6.1. Normas para submissão do manuscrito

O manuscrito será submetido ao periódico: **Research, society and development**.

**Qualis CAPES: A3.**

04/06/2021

Envios | Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento

PESQUISA, SOCIEDADE E DESENVOLVIMENTO

CASA / Submissões

### Submissões

Faça [login](#) ou [registre-se](#) para fazer um envio.

#### Lista de verificação de preparação de envio

Como parte do processo de submissão, os autores são solicitados a verificar a conformidade de sua submissão com todos os itens a seguir, e as submissões podem ser devolvidas aos autores que não cumprirem essas diretrizes.

✓ O arquivo em Microsoft Word submetido à Revista **não contém** os nomes dos autores; A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outro periódico; O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos nas [Diretrizes do autor](#).

✓ Custo de publicação (APC) | Para autores brasileiros, a taxa de publicação é de R \$ 300,00 BRL (trezentos reais). Para os demais autores, a taxa de publicação é de US \$ 100,00 (cem dólares americanos). A taxa de publicação é cobrada apenas para artigos aceitos. **Não há taxa de inscrição**.

#### Diretrizes do autor

1) Estrutura do texto:

- Título nesta sequência: Português, Inglês e Espanhol.
- The authors of the article (must be placed in this sequence: name, ORCID, institution, e-mail). NOTE: The ORCID number is individual for each author, and it is necessary for registration at the DOI, and in case of error, it is not possible to register at the DOI.
- Abstract and Keywords in this sequence: Portuguese, English and Spanish (the abstract must contain the objective of the article, methodology, results and conclusion of the study. It must have between 150 and 250 words);
- Body of the text (must contain the sections: 1. Introduction, in which there is context, problem studied and objective of the article; 2. Methodology used in the study, as well as authors supporting the methodology; 3. Results (or alternatively, 3. Results and Discussion, renumbering the other subitems), 4. Discussion and, 5. Final considerations or Conclusion);
- References: (Authors, the article must have at least 20 references as current as possible. Both the citation in the text and the item of References, use the formatting style of the APA -

<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/about/submissions>

1/4

American Psychological Association. References must be complete and updated Placed in ascending alphabetical order, by the surname of the first author of the reference, they must not be numbered, they must be placed in size 8 and 1.0 spacing, separated from each other by a blank space).

## 2) Layout:

- Word format (.doc);
- Written in 1.5 cm space, using Times New Roman font 10, in A4 format and the margins of the text must be lower, upper, right and left of 1.5 cm .;
- Indents are made in the text editor ruler (not by the TAB key);
- Scientific articles must be longer than 5 pages.

## 3) Figures:

The use of images, tables and illustrations must follow common sense and, preferably, the ethics and axiology of the scientific community that discusses the themes of the manuscript. Note: the maximum file size to be submitted is 10 MB (10 mega).

Figures, tables, charts etc. (they must have their call in the text before they are inserted. After their insertion, the source (where the figure or table comes from ...) and a comment paragraph in which to say what the reader must observe is important in this resource The figures, tables and charts ... must be numbered in ascending order, the titles of the tables, figures or charts must be placed at the top and the sources at the bottom.

## 4) Authorship:

The word file sent at the time of submission must NOT have the names of the authors.

All authors need to be included only in the journal's system and in the final version of the article (after analysis by the journal's reviewers). Authors should be registered only in the metadata and in the final version of the article in order of importance and contribution to the construction of the text. NOTE: Authors write the authors' names in the correct spelling and without abbreviations at the beginning and end of the article and also in the journal's system.

The article must have a maximum of 15 authors. For exceptional cases, prior consultation with the Journal Team is required.

## 5) Tutorial videos:

- New user registration: <https://youtu.be/udVFytOmZ3M>
- Step by step of submitting the article in the journal system: <https://youtu.be/OKGdHs7b2Tc>

## 6) Example of APA references:

- Journal article:

Gohn, M. G. & Hom, C. S. (2008). Theoretical Approaches to the Study of Social Movements in Latin America. *CRH Notebook*, 21 (54), 439-455.

- Book:

Ganga, G. M. D. ; Soma, T. S. & Hoh, G. D. (2012). *Course conclusion work (TCC) in production engineering*. Atlas.

- Web page:

Amoroso, D. (2016). *What is Web 2.0?* <http://www.tecmundo.com.br/web/183-o-que-e-web-2-0->

7) The journal publishes original and unpublished articles that are not postulated simultaneously in other journals or editorial bodies.

8) Doubts: Any doubts send an email to [rsd.articles@gmail.com](mailto:rsd.articles@gmail.com) or [dorlivete.rsd@gmail.com](mailto:dorlivete.rsd@gmail.com) or WhatsApp (55-11-98679-6000)

## Copyright Notice

Authors who publish with this journal agree to the following terms:

- 1) Authors retain copyright and grant the journal right of first publication with the work simultaneously licensed under a Creative Commons Attribution License that allows others to share the work with an acknowledgement of the work's authorship and initial publication in this journal.
- 2) Authors are able to enter into separate, additional contractual arrangements for the non-exclusive distribution of the journal's published version of the work (e.g., post it to an institutional repository or publish it in a book), with an acknowledgement of its initial publication in this journal.
- 3) Os autores estão autorizados e encorajados a postar seus trabalhos online (por exemplo, em repositórios institucionais ou em seus sites) antes e durante o processo de submissão, pois isso pode levar a trocas produtivas, bem como a citações anteriores e maiores de trabalhos publicados.

## Declaração de privacidade

Os nomes e endereços informados a esta revista são de uso exclusivo e não serão repassados a terceiros.

## MÉTRICAS DE REVISTA

Índice H5 (Google Metrics): 8 (2020)

Pontuação CiteFactor: 1,78 (2020-21)

## LÍNGUA

inglês

Español (Espanha)

Português (Brasil)

FAÇA UM ENVIO

Base de Dados e Indexadores: [Base](#), [Diadorim](#), [Sumarios.org](#), [DOI Crossref](#), [Dialnet](#), [Scholar Google](#), [Redib](#), [Latindex](#)

**Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento - ISSN 2525-3409**



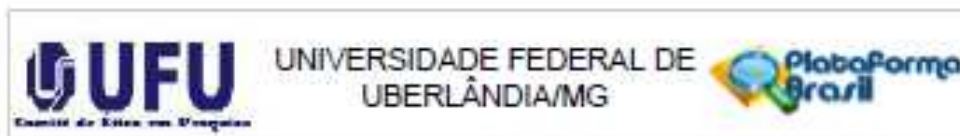
Este obra está licenciado com uma Licença [Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional](#).

Editores de CDRR. Avenida Sulim Abramovitch, 100 - Centro, Vargem Grande Paulista - SP, 06730-000

E-mail: [rsd.articles@gmail.com](mailto:rsd.articles@gmail.com) | WhatsApp +55 11 98679-6000



## 6.2. Parecer emitido pelo Comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** Avaliação in vitro da citotoxicidade e da modulação inflamatória de diferentes removedores químico-mecânicos de tecido cariado sobre células pulpares de dentes decíduos humanos

**Pesquisador:** Ana Paula Turroni Hidalgo

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 07067018.4.0000.5152

**Instituição Proponente:** FACULDADE DE ODONTOLOGIA

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.695.651

#### Apresentação do Projeto:

A presente pesquisa tem como objetivo avaliar in vitro a citotoxicidade de dois diferentes removedores químico-mecânicos de tecido cariado, Papacarie® e Brix 3000®, sobre células pulpares de dentes decíduos humanos. A metodologia, conforme já descrita, foi feita de maneira direta. Ou seja, o material a ser testado sofria um processo de diluição e posteriormente era aplicado nas células semeadas. Entretanto, no decorrer da pesquisa, observamos que os materiais apresentaram alta citotoxicidade para esse tipo de aplicação, necessitando realizar uma metodologia indireta, onde o material a ser testado não será colocado diretamente nas células. Dessa forma, simulará melhor a prática clínica, obtendo resultados ainda mais eficazes e relevantes.

Para isso necessita-se de discos de dentina retirados de dentes humanos.

Os critérios de inclusão dos participantes da pesquisa incluem:

- o Pacientes saudáveis;
- o Dentes hígidos;
- o Indivíduos entre 20 e 30 anos (dentes permanentes);

Os critérios de exclusão dos participantes da pesquisa incluem:

- o Presença de doenças crônicas e alterações sistêmicas;

Endereço: Av. João Neves de Ávila 2121 - Bloco "1A", sala 204 - Campus Sta. Mônica  
Bairro: Santa Mônica CEP: 38408-144  
UF: MG Município: UBERLÂNDIA  
Telefone: (34)3235-4131 Fax: (34)3235-4131 E-mail: cep@propp.ufu.br