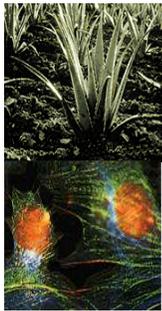
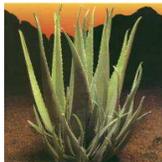




**ALFONSO GALA-GARCÍA**



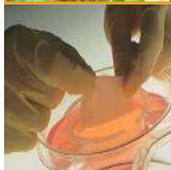
**Avaliação antimicrobiana in vitro e da resposta do complexo dentino-pulpar in vivo após capeamento direto com Aloe vera L. em ratos**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Belo Horizonte**

**2005**



ALFONSO GALA-GARCÍA

Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro e da resposta do complexo dentino-pulpar in vivo após capeamento direto com Aloe vera L. em ratos.

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Clínica Odontológica

Orientadora: Profa. Dr. Maria Esperanza Cortés

Co-orientador: Prof. Dr. Vagner Rodrigues Santos

Colaborador: Prof. Dr. Antônio Paulino Sobrinho

BELO HORIZONTE

2005

## FICHA CATALOGRAFICA

GALA-GARCÍA, Alfonso

Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro e da resposta do complexo dentino-pulpar in vivo, após capeamento direto com Aloe vera L, em ratos.

Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Minas Gerais.

Faculdade de Odontologia.

Título em Inglês: Antimicrobial evaluation activity in vitro and responses of complex dentin-pulp in vivo after capping-pulp with Aloe vera L. in rats.

Dedico el presente trabajo

A Dios, por haber cuidado de mí estos dos años en el Brasil y por acompañarme espiritualmente a lo largo de este camino en la maestría; haciendome aprender con paciencia y cariño de esta inolvidable experiencia.

A mis adorados Padres Irma García Canales y Alfonso Gala Quispe, ejemplos de vida, por el infinito amor, sabiduria, por creer en mi y en mis objetivos incondicionalmente.

A mis queridos hermanos: Luz, Elva, César, Nidia, Coralí, Irma y Marlon por todo el cariño y la fuerza brindada.

A mis sobrinos: Lenci Abzalí, Irma Isabel, Francis Marcelo, Salvador Arol, Daliana Yael e Italo Rafael, a quienes yo amo tanto.

A mis cuñados y todos mis familiares por el gran cariño y toda la fuerza que me demostraron.

A mi bello y querido país la Republica Del Perú, que representa mi identidad y orgullo.

Agradecimento especial:

À Professora Doutora Maria Esperanza Cortés, minha orientadora, por ter me dado a oportunidade e as condições necessárias para a realização deste trabalho. Tenha certeza que seu ensino ficará sempre na minha vida profissional e sua valiosa amizade estará presente em mim. Considere-se membro da minha família.

## AGRADECIMENTOS

À coordenadora do Colegiado da Pós-graduação da Faculdade de Odontologia, Professora: Isabela Almeida Pordeus pela disposição e amizade oferecida na minha pessoa.

Ao Colegiado da Pós-graduação pela aceitação como aluno mediante o Convenio Internacional PEC-PG, e ao professor Luiz Tadeu de Abreu Poletto pelo atestado.

Ao professor Vagner Santos pela amizade e valioso aporte neste trabalho.

Ao Professor Antonio Paulino e Kátia Maltos pela grande colaboração.

Ao Professor Ricardo Santiago Gomes pelo apoio na realização desta pesquisa.

À Professora Marisa Drummond pelas valiosas sugestões científicas cheias de carinho feitas na pré-defesa.

Ao professor da Faculdade de Química ICEX-UFMG Ruben Sinisterra pela amizade, orientação e disposição das instalações do laboratório para realizar o processo de liofilização.

À professora do ICB-UFMG, Leda Quércia pela amizade, experiência e disponibilidade do laboratório para realizar minhas experiências.

Ao professor do ICB-UFMG André Massensini, pelos cuidados dos animais no seu biotério.

Aos professores da Pós-graduação: Marília Costa, Carlos Gomes, Miriam Vale, Marcos Dias Lanza, Lincoln Dias Lanza, Lauro Mendes, Jose Eustaquio da Costa, Junia Serra-Negra, Claudia Silami, Cibele Santos e Ana Lucia Amaral, pelo ensino e amizade.

Em especial à professora Patricia Zarzar por compartilhar uma grande amizade e experiência profissional, sua valiosa presença foi muito importante na minha passagem pelo mestrado.

Aos professores Efigênia Ferreira e Saul Paiva pela preocupação e conselhos, sinto-me muito honrado de tê-los como amigos.

Ao Cleides Campos de Oliveira pelo auxílio no processamento das laminas no seu Laboratório de Histologia.

Às secretarias da pós-graduação Jeanette, Vanessa especialmente a Elizabeth Faria pela sua disponibilidade e carinho.

Aos meus amigos Peruanos, Rita Rios, Julio Bartra, Karla Rocca, Marisol Vivar, Martin Rujel, Ruben Zelaya e Evelin Ajalcriña pela força e por suas demonstrações de carinho.

Em especial a Patrícia Villegas e Sandie Arévalo que compartilharam de perto minha experiência no mestrado, torcendo por mim sempre.

Aos meus colegas do Mestrado Vinicius, Mariela e Juliana por compartilhar bons momentos nos estudos, em especial para meus amigos Alessandra Neves, Luis Otavio, Nelly Caíres, Carol Castro, e Luciana Abou-id, pela grande amizade, força e carinho.

Ao Fernando Portella e Fernanda Porto, pela sua amizade e preocupação, vocês representam para mim exemplos de fortaleza e dedicação.

E muito em especial para Thalita Santa Rosa e Tiago Araújo pela valiosa amizade e sabedoria, sua preocupação e carinho são de infinito valor para mim.

Ao André Luiz Pataro, grande amigo de turma e companheiro da mesma área de concentração, juntos caminhamos pelo mestrado compartilhando grandes experiências.

Ao Humberto de Campos Ribeiro Jr, colega do mestrado, companheiro de apartamento e valioso amigo; você fez mais familiar e menos difícil minha estadia no Brasil.

Aos colegas do laboratório da Microbiologia da FO-UFMG, Débora, Eduardo, Rafael, Glauber e Rogério.

Em especial a Maria Auxiliadora, Karina Teixeira e Andréa Anne, pela amizade e trabalho em equipe.

Aos meus colegas do laboratório de Imunológica e Bioquímica do ICB, Taia, Sonia, Lucas, Virginia, Juan e Letícia, em especial para minhas amigas Colombianas Mayra e Claudia.

Ao Marcelo Barbosa, companheiro de pesquisa do ICB com quem aprendi muito na pesquisa em um modelo animal.

Aos meus amigos Brasileiros Karina Barros, Luciana Maia, Karina Bonanato, Sandra Piccini, Ana Cristina, Tia Márcia, Tio Humberto, Thiago, Marcinha, Rafael, Carolina, Felipe, Leia, Hilário, Álamo, Danilo, Luciano, Alexandre e Romer.

Em especial para Isadora Barcelos e Joseana Costa pela valiosa amizade, sinceridade e carinho.

Aos meus amigos do centro esportivo universitário da UFMG, Cleyton e Nonato, por compartilhar as práticas de esportes os fins de semana servindo-me como relaxamento, em especial ao Sergio Souza pela valiosa amizade demonstrada.

Aos filhos da minha orientadora Luisa, Paulo e Natalia pelo carinho oferecido.

Ao pessoal trabalhador da FO-UFMG pela sua gentileza e colaboração para comigo e a todos aqueles que tiveram que ver com a realização deste Mestrado.

A CNPq, pelo apoio financeiro na realização do Mestrado.

Aos animais que contribuíram para o avanço do conhecimento e o bem estar humano.

Ao Brasil, país belo e hospitaleiro que através da FO-UFMG me acolheu como mais um dos seus filhos.

## SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	II
LISTADE FIGURAS.....	VIII
LISTA DE TABELAS.....	XI
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XII
RESUMO.....	XIII
ABSTRACT.....	XV
1. INTRODUÇÃO .....	20
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	24
Capeamento pulpar.....	24
Materiais para capeamento pulpar direto.....	25
Hidróxido de cálcio [Ca(OH) <sub>2</sub> ].....	25
Materiais alternativos ao Ca(OH) <sub>2</sub> .....	33
Trióxido de agregado mineral (MTA).....	33
Biomateriais de fosfato e cálcio sintéticos.....	35
Moléculas bioativas ou modeladores biológicos.....	36
Fitoterápicos.....	37
Aloe vera L.....	39
Acemannan.....	44
Efeito antimicrobiano.....	44
Efeito antiinflamatório.....	45

Efeito analgésico.....	46
Efeito antioxidante.....	47
Efeito antiulceroso.....	47
Efeito regenerador celular.....	47
Efeito laxante.....	48
Aloe vera L. na odontologia.....	48
3. OBJETIVO GERAL.....	49
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	49
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	50
Seleção da planta.....	50
Preparação do material a base de Aloe vera L.....	50
Liofilização do Aloe vera L.....	50
Preparação do gel de Aloe vera L. ao 10% com hidroxietilcelulose ao 2%.....	51
Preparação do sumo puro do Aloe vera L.....	51
Esterilização do material e instrumental.....	51
Aspectos éticos.....	52
Avaliação antimicrobiana do Aloe vera L. in vitro.....	52
Seleção do animal.....	54
Capeamento direto com Aloe vera L. em dentes de rato.....	54
Estudo piloto.....	54
Cálculo amostral.....	55
Anestesia do animal.....	55

	Imobilização na mesa de procedimento.....	56
	Isolamento absoluto.....	56
	Preparação da cavidade.....	56
	Exposição pulpar.....	57
	Capeamento direto.....	57
	Restauração.....	57
	Sacrifício do animal e remoção do maxilar.....	57
<b>5</b>	<b>PROCESSAMENTO HISTOLOGICO.....</b>	<b>60</b>
5.1	Descalcificação dos dentes.....	60
<b>6</b>	<b>AVALIAÇÃO DA RESPOSTA PULPAR.....</b>	<b>61</b>
<b>7</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>63</b>
7.1	Materiais a base do Aloe vera L.....	63
7.2	Atividade antimicrobiana.....	63
7.3	Corte histológico de dente hígido do Rattus norvegicus.....	68
7.4	Capeamento pulpar direto com Aloe vera L. liofilizado em dente de rato.....	69
7.4.1	Resposta pulpar com Aloe vera L. liofilizado após 1 dia.....	69
7.4.1	Resposta pulpar com Aloe vera L. liofilizado após 7 dias.....	70
7.4.2	Resposta pulpar com Aloe vera L. liofilizado após 14 dias.....	71
7.4.3	Resposta pulpar com Aloe vera L. liofilizado após 30 dias.....	72
7.5	Capeamento pulpar direto com Ca(OH) <sub>2</sub> em dente de rato.....	73
7.5.1	Resposta pulpar com Ca(OH) <sub>2</sub> após 1 dia.....	73
7.5.2	Resposta pulpar com Ca(OH) <sub>2</sub> após 7 dias.....	74
7.5.3	Resposta pulpar com Ca(OH) <sub>2</sub> após 14 dias.....	75
7.5.4	Resposta pulpar com Ca(OH) <sub>2</sub> após 30 dias.....	76

7.6	Capeamento pulpar direto com o controle negativo.....	77
7.6.1	Resposta pulpar com o controle negativo após 1 dia.....	77
7.6.2	Resposta pulpar com o controle negativo após 7 dias.....	78
7.6.3	Resposta pulpar com o controle negativo após 14 dias.....	79
7.6.4	Resposta pulpar com o controle negativo após 30 dias.....	80
7.7	Análise estatística.....	81
8	DISCUSSÃO.....	82
9	CONCLUSÕES.....	90
10	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91
11	ANEXOS.....	107
11.4	Teste de concordância de Kappa intraexaminador	
11.5	Parecer do CETEA UFMG	

## LISTA DE FIGURAS

	FIGURA 1	Planta de Aloe vera L.....	39
FIGURA 2	Corte transversal (A) e longitudinal (B) da folha do Aloe vera L.....		40
FIGURA 3	Macroscopia da folha de Aloe vera L : corte transversal (a) e em um corte longitudinal (b) corte transversal, as setas fechadas superiores indicam a casca, setas fechadas inferiores indicam à polpa; setas abertas indicam o pacote vascular (NI et al., 2004).....		42
FIGURA 4	Microscopia óptica do corte histológico da polpa fresca de Aloe vera L (seções de 2–3 mm). (a) (4X) Visão da polpa; (b) (4X) polpa junto com epidermes, (c) (10X) polpa e epidermes. As setas cheias indicam a casca verde, a seta vazia indica a polpa clara e cabeças de seta abertas indicam a parede das celas do mesófilo da polpa (NI et al 2004).....		44

- FIGURA 5                   Etapas da metodologia utilizada nos testes microbiológicos: (A) microorganismos; (B) semeados dos micrororganismos; (C) controles e (D) Aloe vera L liofilizado colocado na placa.....53
- FIGURA 6                   Etapas da metodologia in vivo do capeamento direto no primeiro molar superior esquerdo do rato: (A) Animal anestesiado na mesa cirúrgica; (B) e (C) isolamento absoluto do primeiro molar superior esquerdo; (D) e (E) preparação da cavidade; (F) exposição; (G) colocação dos materiais e (H) restauração com amalgama de prata...59
- FIGURA 7                   Halos de inibição no teste de difusão em ágar da atividade antimicrobiana com preparações de Aloe vera L. frente *Actinobacillus actinomycetencomitans* após 6 h (A); 12h (B); 18 h (C) e 24 h (D)...67
- FIGURA 8                   Microscopia ótica de corte histológico do dente de rato sem nenhuma intervenção: (A) Aumento 10x, c: câmara pulpar, d: dentina; B) 40x, a: camada de odontoblastos, b: pré-dentina (5 $\mu$ ) H&E.....68
- FIGURA 9                   Corte histológico do dente de rato capeado com Aloe vera L. liofilizado após 1 dia (A) Aumento 4X: (a) Exposição pulpar; (B) 10X (a) Exposição pulpar, (b) Infiltrado inflamatório agudo; (C) 40X (a)

infiltrado inflamatório agudo (b) vasos hiperemiados. (5 $\mu$ )

H&E.....69

FIGURA 10 Corte histológico do dente de rato capeado com Aloe vera L  
liofilizado após 7 dias, (A) Aumento 4X : (a) Exposição pulpar;  
(B)(a) Exposição pulpar em detalhe (b) Infiltrado inflamatório agudo  
(c) infiltrado inflamatório crônico (C), (a) substância amorfa (D) (a)  
tecido conjuntivo frouxo. (5 $\mu$ )

H&E.....70

FIGURA 11 Corte histológico do dente de rato capeado com Aloe vera L  
liofilizado após 14 dias, (A) Aumento 4X: (a) Exposição pulpar; (B)  
10X, Exposição pulpar em detalhe, (b) substância mineralizada (C)  
40X: (a) infiltrado inflamatório crônico (D) 40X, (a) substância  
mineralizada em detalhe, (5 $\mu$ )

H&E.....71

FIGURA 12 Corte histológico do dente de rato capeado com Aloe vera L  
liofilizado após 30 dias, (A) Aumento 10X: (a) Exposição pulpar; (b)  
substância mineralizada (c) vasos dilatados (B) 40X, (a) Exposição  
pulpar, (b) substância mineralizada (C) 40X, (a) camada mais  
superficial de substância mineralizada (D) 40X, (a) camada mais  
profunda de substância mineralizada, (b) reorganização da camada de  
odontoblastos (c) vasos hiperemiados. (5 $\mu$ )

H&E.....72

FIGURA 13 Corte histológico do dente de rato capeado com  $\text{Ca(OH)}_2$  após 1 dia,  
(A) Aumento 10X:(a) Exposição pulpar; (B) 40X, (a) Exposição pulpar em detalhe, (C) 40X, (a) necrose superficial por coagulação,  
(D) 40X, tecido conjuntivo frouxo. (5 $\mu$ )  
H&E.....73

FIGURA 14 Corte histológico do dente de rato capeado com  $\text{Ca(OH)}_2$  após 7 dias,  
(A) Aumento 10X: (a) Exposição pulpar; (B) 40X, (a) infiltrado inflamatório crônico, (C) 40X: (a) infiltrado inflamatório crônico (D) 40X, (a) tecido conjuntivo frouxo (5 $\mu$ )  
H&E.....74

FIGURA 15 Corte histológico do dente de rato capeado com  $\text{Ca(OH)}_2$  após 14 dias, (A) Aumento 10X: (a) exposição pulpar; (B) 40X, (a) exposição pulpar em detalhe (b) infiltrado inflamatório crônico, (C) 40X: (a) tecido mineralizado (5 $\mu$ )  
H&E.....75

FIGURA 16 Corte histológico do dente de rato capeado com  $\text{Ca(OH)}_2$  após 30 dias, (A) Aumento 10X: (a) exposição pulpar; (B) 40X, (a) exposição pulpar; (b) infiltrado inflamatório crônico; (C) (a) e (b) tecido mineralizado; (D) 40X: (a) tecido mineralizado; (b) organização da camada de odontoblastos; (5 $\mu$ )  
H&E.....76

FIGURA 17 Corte histológico do dente de rato capeado com o controle negativo após 1 dia , (A) Aumento 4X: (a) exposição pulpar; (B) 40X, (a)

infiltrado inflamatório agudo; (b) zona de necrose, (C) 40X: (a) vasos hiperemiados. (5 $\mu$ )

H&E.....77

FIGURA 18 Corte histológico do dente de rato capeado com o controle negativo após 7 dias , (A) Aumento 4X: (a) exposição pulpar; (B) 40X, (a) infiltrado inflamatório agudo. (5 $\mu$ )

H&E.....78

FIGURA 19 Corte histológico do dente de rato capeado com o controle negativo após 14 dias, (A) Aumento 4X: (a) exposição pulpar; (B) 10X, (a) zona de necrose; (b) infiltrado inflamatório agudo; (C) 40X área de necrose em detalhe (5 $\mu$ )

H&E.....79

FIGURA 20 Corte histológico do dente de rato capeado com o controle negativo após 30 dias, (A) Aumento 10X: tecido pulpar; (B) 40X, (a) e (b) necrose total da polpa (5 $\mu$ )

H&E.....80

## LISTA DE TABELAS

- TABELA 1. Análise quantitativa dos componentes minerais e aminoácidos do Aloe vera L. (PEUSER, 2003).....41
- TABELA 2. Distribuição dos animais de acordo com os dias de sacrifício, após a exposição e capeamento pulpar.....60
- TABELA 3. Media dos halos de inibição obtidos após 6 horas n=3 (mm).....65
- TABELA 4. Media dos halos de inibição obtidos após 24 horas n=3 (mm).....66
- TABELA 5 Índice de concordância Kappa intraexaminador nas 4 categorias.....81
- TABELA 6. Distribuição das frequências percentuais na formação de ponte dentinária em relação aos materiais aplicados Aloe vera L. e Ca(OH)<sub>2</sub>.....8

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACM	Acemannan
BMPs	Proteínas Osteomorfogênicas
Ca (OH) <sub>2</sub>	Hidróxido de cálcio
°C	Graus Celsius
g	Gramas
GLA	Gamacarboxilglutamato
H&E	Hematoxilina e eosina
MEC	Moléculas de matriz extracelular
mg	miligramas
mm	milímetros
MPC	Hidróxido de cálcio associado ao p-mono-clorofenol
MTA	Agregado de trióxido mineral
lt	Litro
OPs	Proteínas Osteogênicas
PMN	Polimorfonucleares
PH	Concentração hidrogenionica
TGFβ	Fator transformante β
5μm	Cinco micrometros

## RESUMO

Dentro da grande biodiversidade vegetal destaca-se o Aloe vera L. com propriedades antimicrobianas, antiinflamatórias e regenerativas de grande valor na medicina. Este estudo teve por objetivo a preparação de um material, sua avaliação da atividade antimicrobiana in vitro e da resposta do complexo dentino-pulpar in vivo após capeamento pulpar direto com Aloe vera L. em ratos. Desta forma, foram preparados: um sumo puro, um gel que usou como base de hidroxietil celulose e pó liofilizado da polpa do Aloe vera L. para determinar a atividade antimicrobiana do material obtido. Os microorganismos testados foram: Streptococcus mutans (UFRJ), Enterococcus faecalis (ATCC14508), Staphylococcus aureus (ATCC 27664), Lactobacillus casei (ATCC 7469), Cândida albicans (ATCC18804) e Actinobacillus actinomycetemcomitans (Y4FDC). Os resultados da avaliação microbiológica mostraram que o Aloe vera L. liofilizado teve atividade antimicrobiana efetiva contra os microorganismos testados quando comparado com o sumo e o gel, e esta ação foi efetiva até 24 horas. Em virtude deste resultado procedeu-se à avaliação in vivo. A resposta do tecido pulpar após capeamento direto com Aloe vera L em dente de rato foi avaliado histologicamente e corados com a técnica H&E nos períodos de 1, 7, 14 e 30 dias. Como grupo controle positivo foi utilizado o Ca(OH)<sub>2</sub> e como controle negativo nenhuma substância. O grupo capeado com Aloe vera L. mostrou infiltrado inflamatório agudo leve a moderado no primeiro dia o qual tornou-se crônico moderado desde dia 7 em diante e no grupo capeado com Ca(OH)<sub>2</sub>, no primeiro dia, o infiltrado inflamatório agudo foi severo acompanhado com necrose superficial. A partir do dia 7 em diante mudou para crônico moderado. Os resultados desta avaliação mostraram que o capeamento da polpa com Aloe vera L. liofilizado estimulou a formação de dentina reparadora 30 dias após, com a

formação de ponte adjacente ao material em 87% das polpas. Esta resposta foi análoga à produzida pelo  $\text{Ca(OH)}_2$  sendo que 95% dos casos formaram de ponte dentinária (n=24). O grupo controle negativo revelou necrose parcial ou total da polpa em 93%. Devido à formação de ponte completa e à presença de inflamação compatível com o processo de resolução para a saúde, esses resultados apóiam a reivindicação de que Aloe vera L. liofilizado é um material com capacidade de induzir a formação de dentina reparadora. Desta forma, foi possível concluir que o Aloe vera L apresentou ação antimicrobiana in vitro e biocompatibilidade com os tecidos pulpaes in vivo, estimulando sua regeneração, indicando-o como proposta de estudo de um novo material para capeamento pulpar na conservação do complexo dentino-pulpar.

## ABSTRACT

Aloe vera has been extensively studied in search for effective and less toxic antimicrobial and anti-inflammatory agents. The efficacy of in vitro Aloe vera Linné (Aloe vera L.) antimicrobial formulations as juice (G1), gel (G2), and freeze-dried powder (G3) against *Streptococcus mutans* (UFRJ), *Enterococcus faecalis* (ATCC14508), *Staphylococcus aureus* (ATCC 27664), *Lactobacillus casei* (ATCC 7469), *Candida albicans* (ATCC 18804) and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Y4FDC) was evaluated. G3 showed bacteriostatic and antifungal activity. In vivo pulp capping was performed to reveal the effects of G3 on pulp reaction after capping. Histopathological examination after pulp capping with Aloe vera L. showed a predominant acute-moderate inflammatory infiltrate after 1 to 7 days, which took a normal pattern from days 14 to 30. In addition, Aloe vera L. stimulated reparative dentine and a formation of complete bridge similarly to Ca(OH)<sub>2</sub>. Strong superficial necrosis was noted exclusively for Ca(OH)<sub>2</sub>.

In conclusion, freeze-dried Aloe vera L. is a potential candidate as a phytotherapeutic agent in some reversible pulp conditions and to stimulate dentin bridge formation.

Keywords: Aloe vera L., pulp capping, dentin bridge formation, antimicrobial activity, Ca(OH)<sub>2</sub>, biocompatibility

## 1 INTRODUÇÃO

Mudanças no modelo de atenção odontológica mostram uma tendência à manutenção do elemento dentário e à preservação dos tecidos que o compõem. A odontologia tradicional com ênfase cirúrgico-restaurador vem dando lugar à odontologia preservadora (ANUSAVICE, 1998) e à promoção de saúde. Esse novo modelo baseia-se em criar melhores condições de saúde bucal, respeitando o potencial curativo e mineralizador do dente, determinando o risco à doença, aplicando terapias menos invasivas e monitorando sua evolução (TZIAFAS et al., 2000). Neste contexto, o desenvolvimento de estratégias para manter a vitalidade do complexo dentino-pulpar representa atualmente um grande desafio entre os pesquisadores.

Dentina e polpa são consideradas um órgão único, denominado complexo dentino-pulpar, devido à íntima relação entre a camada de células da periferia da polpa e seus prolongamentos dentro dos túbulos dentinários (KITASAKO et al. 1999). A dentina é um tecido mineralizado, de natureza conjuntiva, que constitui a maior parte da estrutura do dente, além de dar suporte ao esmalte que a reveste em sua porção coronária. O conteúdo inorgânico da dentina consiste, principalmente, de hidroxiapatita e o colágeno tipo I compõe a maior parte da fase orgânica. Além disso, a dentina contém proteínas não colagenosas, como glicoproteínas, proteoglicanas, fosfoproteínas do plasma e água (LINDE, 1985).

Atualmente, as lesões pulpares de caráter reversível são tratadas por meio do capeamento pulpar. O capeamento pulpar pode ser direto ou indireto e pode utilizar diversos materiais e protocolos terapêuticos (TZIAFAS et al. 2000). Entre os materiais empregados para o capeamento pulpar destaca-se o  $\text{Ca(OH)}_2$ . Usado há mais de 50

anos, o  $\text{Ca(OH)}_2$  é o material de escolha para os tratamentos conservadores pulpares, incluindo a pulpotomia. A principal razão do amplo uso do  $\text{Ca(OH)}_2$  é o mecanismo de ação biológica que ativa enzimas teciduais promovendo o efeito mineralizador, levando à formação de ponte dentinária em aproximadamente 90% dos casos. A densidade do novo tecido formado é variável e em muitos casos é difícil de ser visualizado no exame radiográfico. Ainda, o  $\text{Ca(OH)}_2$  tem baixa resistência à compressão e promove uma necrose superficial que leva a uma resposta inflamatória pulpar transitória (HOLLAND, 1971). Esse material tem o tempo de ação curto e reabsorve-se facilmente.

Levando em consideração estas limitações, diversos biomateriais vêm sendo estudados como promissores substitutos do tradicional  $\text{Ca(OH)}_2$ , visando especialmente a redução dos efeitos citotóxicos (COSTA et al. 2000). Entre eles destacam-se a hidroxiapatita sintética (SOARES et al., 1995), os cimentos de fosfato de cálcio (YOSHIMINE & MAEDA, 1995) e o agregado trióxido-mineral (TORABINEJAD & CHIVIAN, 1999; TZIAFAS et al., 2002).

Adicionalmente, moléculas da matriz extracelular (MEC) como o ácido hialurônico e a fibronectina (SASAKI & KAWAMATA-KIDO, 1995), moléculas sinalizadoras bioativas (endógenas e exógenas) tais como os fatores de crescimento e proteínas osteogênicas (JEPSEN et al., 1997; HU et al., 1998; TZIAFAS et al. 2000) têm sido estudadas visando a neoformação de dentina reparativa, pelo seu comprovado envolvimento na citodiferenciação de odontoblastos durante a odontogênese.

Sistemas adesivos dentinários também foram testados no capeamento pulpar direto (SILVA, 2003) mostrando uma extensa resposta inflamatória; e indireto (GOMES, 2002) com resultados efetivos.

Os princípios ativos obtidos das plantas medicinais transformados em

fitoterápicos são mais uma opção para a terapia conservadora na aplicação nos tecidos corporais devido às suas propriedades regeneradoras, antiinflamatórias, analgésicas e antimicrobianas. Na atualidade as plantas medicinais estão sendo inseridas em alguns serviços de saúde como um recurso terapêutico de possível utilização na atenção médica primária (VIANA et al., 1998; MATOS, 1994; COSTA et al., 1992).

A Organização Mundial de Saúde (OMS), na conferência de Alma Ata, 1978, reconhece que países da Comunidade Européia, Ásia, Japão e Estados Unidos, no uso de vegetais com finalidades terapêuticas (YAMADA, 1998). A OMS também recomenda aos países com grande biodiversidade vegetal como o Brasil aumentarem o uso dos fitoterápicos (<http://www.who.int/en/>). GRUENWALD em 1998 afirmou que nas últimas décadas há uma procura dos pacientes por prescrições alternativas naturais.

O Aloe vera L. apresenta propriedades antimicrobianas, antiinflamatórias e regenerativas de grande valor na medicina. O Aloe vera L., denominado comumente como "babosa", é uma planta pertencente à família das liliaceae, assim como o lírio e o alho, e tem alto conteúdo de água semelhante ao cacto. Essa planta tem sido popularmente usada durante anos devido às suas propriedades medicinais atribuídas à beleza, saúde e cuidados da pele e cabelo, geralmente sob a forma de sumos (REYNOLDS & DWECK, 1999).

A atividade está relacionada à concentração dos princípios ativos primordiais para dar a segurança e eficácia necessária para a utilização médica (ROIJ, 1988). Diversas propriedades do Aloe vera L. têm sido demonstradas: antiinflamatória, analgésica, antimicrobiana, imunoestimulante (DJERABA & QUERE, 2000), adstringente,

coagulante, estimulante do crescimento celular, nutritiva, digestiva, desintoxicante e hidratante.

Seu uso está sendo pesquisado na odontologia, dermatologia e gastroenterologia em instituições conceituadas como o Instituto de Ciências e Medicina Linus Pauling de Palo Alto, Califórnia, Instituto Weisman de Israel e a Universidade de Oklahoma entre outros. Contudo, o número de publicações é limitado e faltam estudos prospectivos. Diante do panorama apresentado e a necessidade crescente de medicações alternativas de origem vegetal para o desenvolvimento de novos produtos para a saúde humana o Aloe vera L. teria aplicação como agente antimicrobiano, antiinflamatório, analgésico e regenerador celular. Em vista disso, nossa hipótese é que o Aloe vera L. devido as suas propriedades possibilitaria a manutenção da integridade pulpar e propiciaria a migração de células mesenquimais indiferenciadas, induzindo à diferenciação celular para a neoformação de dentina de reparação no complexo dentino-pulpar. Portanto, é importante verificar qual é a real atividade antimicrobiana do Aloe vera L. mediante o estudo microbiológico in vitro e histopatológico da resposta pulpar após o capeamento em dentes de rato in vivo.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

A dentina aloja em seu interior a polpa dentária, que é um tecido conjuntivo frouxo responsável pela função formativa, nutritiva, sensitiva, de sustentação e de defesa do dente. O odontoblasto, a principal célula do complexo dentino-pulpar, é derivada da crista neural e constitui uma população de células únicas com capacidade de formação e reparo (HOLLAND, 1985; TEN CATE, 1985).

Diversas são as causas que podem provocar alterações da polpa dental, de forma reversível ou irreversível. As causas dependem da origem, tipo, duração e intensidade do estímulo aplicado, das características e do estado do próprio tecido para responder a estes estímulos recebidos. A resposta da polpa dental, entre outros fatores, é especialmente dependente do suprimento sanguíneo (DE DEUS, 1992).

O desenvolvimento de estratégias terapêuticas para o tratamento da polpa vital, que objetivam manter a vitalidade e função do complexo dentino-pulpar, representa atualmente um grande desafio entre os pesquisadores. O capeamento pulpar direto, indireto e a pulpotomia são terapias desenvolvidas para o tratamento nas lesões pulpares de caráter reversível (TZIAFAS et al., 2000).

### 2.1 Capeamento pulpar

O capeamento pulpar direto é uma técnica que consiste em colocar um material no local onde houve uma exposição pulpar para preservar os tecidos da polpa e o complexo dentino-pulpar e é considerado um método válido para a conservação da polpa dental,

reconhecido pela Associação Americana de Endodontia (AMERICAN ASSOCIATION OF ENDODONTICS, 1981). Nesse tratamento, busca-se estimular polpas jovens saudáveis a depositarem uma ponte de dentina no local onde a polpa foi exposta (KOPEL, 1992, STANLEY, 1998), evitando a evolução do processo de injúria que poderia culminar em tratamentos mais radicais como o tratamento endodôntico radical ou a exodontia.

O capeamento pulpar direto, quando bem sucedido, pode preservar a vitalidade do tecido pulpar exposto. O sucesso relatado na literatura depende principalmente da causa da exposição, do tamanho da área exposta, da localização do sítio de exposição e da idade do paciente (MORITZ et al., 1998). A técnica de capeamento direto é de fácil domínio para o endodontista e para o clínico geral e mostram resultados positivos. E também, o baixo custo atinge uma importância social relevante para a conservação do complexo dentino-pulpar (HOLLAND & SOUZA, 1991).

## 2.2 Materiais para capeamento pulpar direto

### 2.2.1 Hidróxido de cálcio [Ca (OH)<sub>2</sub>]

Pesquisas desenvolvidas por HOLLAND sobre o hidróxido de cálcio desde a década de 60 demonstraram a eficácia deste medicamento para o uso endodôntico devido a sua capacidade de induzir a formação de tecido mineralizado e a sua ação antimicrobiana. São variadas as aplicações clínicas do Ca(OH)<sub>2</sub> na odontologia, e entre elas as mais comuns são a medicação intracanal, no tratamento de apexificação, de reabsorções e perfurações radiculares, em pulpotomias e capeamento pulpar (HEITHERSAY, 1975; BURKE, 1976; CVEK, 1978).

Em sua forma natural, o  $\text{Ca(OH)}_2$  apresenta-se como um pó branco, alcalino (pH 12,8), pouco solúvel em água (solubilidade de 1,2 g/lit de água, à temperatura de 25°C). Trata-se de uma base forte obtida a partir da calcinação (aquecimento) do carbonato de cálcio, até sua transformação em óxido de cálcio (cal viva), que hidratada forma o óxido de cálcio. As propriedades do  $\text{Ca(OH)}_2$  derivam de sua dissociação iônica em íons cálcio e íons hidroxila, sendo que a ação destes íons sobre os tecidos e as bactérias explica as propriedades biológicas e antimicrobianas desta substância (HOLLAND et al., 1971, ESTRELA & PESCE, 1996).

A liberação dos íons hidroxila do  $\text{Ca(OH)}_2$  promove um meio com alto pH, o que possibilita a alteração da integridade da membrana citoplasmática das bactérias, levando a uma inativação irreversível de sua atividade enzimática (ESTRELA et al., 1995b).

Diversos trabalhos têm demonstrado a ação antibacteriana do  $\text{Ca(OH)}_2$  quando utilizado como medicação intra-canal e analisaram a difusão dos íons hidroxila através da dentina (TRONSTAD et al., 1981; WANG & HUME, 1988; NERWICH et al., 1993; FUSS et al., 1996; FOSTER et al., 1993; ESTRELA et al., 1995a; GOMES et al. 1996; REHMAN et al., 1996). Estudos in vivo demonstraram que o  $\text{Ca(OH)}_2$  pode ser considerado uma das melhores medicações disponíveis para o tratamento de lesões pulpares (STANLEY, 1998).

A participação dos íons cálcio nos processos de mineralização, como na formação de pontes de dentina, selamento biológico apical e oclusão dos túbulos dentinários, foi demonstrada na literatura (HEITHERSAY, 1975; HOLLAND et al., 1978; HOLLAND et al., 1982; SEUX et al., 1991; WAKABAYASHI et al., 1993). Estudos histoquímicos e análises com luz polarizada verificaram que, quando o  $\text{Ca(OH)}_2$  entra em contato com o tecido conjuntivo ocorre uma imediata precipitação de granulações birrefringentes à luz

polarizada. A alta concentração de íons cálcio pode também ativar enzimas como a pirofosfatase (HEITHERSAY et al., 1975) ou a fosfatase alcalina (TRONSTAD et al., 1981) que desempenham importante função no processo de mineralização.

Segundo TENCATE (1998), a fosfatase alcalina é uma enzima hidrolítica que está associada à produção de qualquer tipo de tecido mineralizado. Embora seu mecanismo de ação não esteja bem esclarecido, sabe-se que esta enzima atua por meio da liberação de íons fosfato em meio alcalino. Por meio de uma necrose superficial gerada pela alta alcalinidade do material capeador e subsequente formação de um tecido cicatrizante rico em fibras, células pulpares normais são convertidas em odontoblastos secundários, com capacidade de formar a ponte dentinária. Entretanto, PAMEIJER & STANLEY (1998) demonstraram que o efeito cáustico do  $\text{Ca(OH)}_2$  não gerou dano permanente ao tecido pulpar e a irritação superficial está envolvida na diferenciação de células pulpares saudáveis em células “tipo-odontoblastos” (SCHUURS et al., 2000).

De acordo com TZIAFAS (1995), o efeito caustico do  $\text{Ca(OH)}_2$  não gera dano permanente em todo o tecido pulpar. Ao contrário, a irritação superficial provocada pela formação de uma zona necrótica, juntamente com a possível dissolução de fatores de crescimento da matriz, como o TGF- $\beta$ , parecem estar envolvidas na diferenciação celular.

Após a necrose superficial gerada pela alta alcalinidade do material, células inflamatórias migram para a camada mais profunda da polpa e removem os restos do tecido necrótico. Fibroblastos e células mesenquimais indiferenciadas se diferenciam em células “tipo odontoblastos”. Os fibroblastos sintetizam uma matriz fibrodentinária atubular, que, por sua vez, torna-se calcificada por minerais provenientes tanto do sangue, quanto do

material capeador. A fibronectina é expressa nesta fase do reparo, ligando-se ao fator de crescimento (TGF- $\beta$ ), sendo ambos importantes para a diferenciação citológica e funcional das células “tipo odontoblastos”. Desta forma, é possível que o  $\text{Ca(OH)}_2$  contribua para a criação de um ambiente favorável para o reparo tecidual, tanto pela neutralização do meio ácido, quanto pelo seu potencial antimicrobiano (TZIAFAS et al., 2000).

Essas granulações de carbonato de cálcio amorfas, sob a forma de calcita, podem ser detectadas duas horas após o contato do  $\text{Ca(OH)}_2$  com o tecido. Observam-se também abaixo dessas granulações complexos de cálcio-proteínas, caracterizando uma área de calcificação distrófica. Nesse local, está presente o material aprisionado, ou seja, células, vasos e fibras. Desta forma, pode-se caracterizar, inicialmente, três zonas como resultado da interfase do  $\text{Ca(OH)}_2$  com o tecido pulpar: 1) zona de necrose de coagulação, correspondente à área de desnaturação protéica do tecido pulpar; 2) zona granulosa superficial, constituída por granulações grosseiras de carbonato de cálcio; 3) zona granulosa profunda, exibindo finas granulações de sais de cálcio e representando uma área de calcificação distrófica. Em um intervalo de 2 a 48 horas, as granulações de carbonato de cálcio aumentam em número e tamanho. Também na zona granulosa profunda, os sais de cálcio também continuam a ser depositados.

É possível que com a desnaturação protéica da zona de necrose, ocorra a liberação de radicais ativos que atrairiam, eletrostaticamente, sais de cálcio para sua proximidade, contribuindo desta forma para a precipitação de sais de cálcio na zona granulosa profunda. Dois dias após a aplicação de  $\text{Ca(OH)}_2$ , na zona granulosa profunda e imediações, as fibras do tecido pulpar se dispõem paralelamente ao longo eixo do dente. Abaixo da zona granulosa profunda surgem numerosas células jovens em proliferação, sendo visíveis

inclusive células em mitose. Aos sete dias, as fibras paralelas ao longo eixo do dente parecem torcidas lembrando as fibras de Van Korff. Alguns odontoblastos jovens podem ser visualizados, dispostos de modo irregular. Após 30 dias, o reparo está completo, estando presente dentina, pré-dentina e a camada odontoblástica organizada. A ponte formada por tecido duro apresenta três camadas: granulações de carbonato de cálcio, área de calcificação distrófica e dentina; 4) zona de proliferação celular; 5) zona de polpa normal (HOLLAND, 1971; ESTRELA & HOLLAND, 2004).

PEREIRA et al., (1980) compararam o  $\text{Ca(OH)}_2$  na forma de pó e na forma de pasta no capeamento pulpar de dentes de cães, após os períodos de 2, 30, 70 e 120 dias. Os resultados histológicos mostraram que, somente após 120 dias foram observadas pontes de tecido mineralizado. Em alguns dentes, os autores verificaram que o exame radiográfico mostrava áreas radiopacas, indicativas de formação de ponte. Entretanto, estes achados radiográficos não se confirmaram sempre nas observações histológicas e não houve diferença entre as duas formas de aplicação do  $\text{Ca(OH)}_2$ .

OLIVEIRA et al., (1988) avaliaram a reação de polpas de dentes de ratos após capeamento com pastas de  $\text{Ca(OH)}_2$  misturadas aos veículos polietilenoglicol, polietilenoglicol-iodofórmio e polietilenoglicol com óxido de zinco. Os resultados histológicos demonstraram que todas as pastas avaliadas foram irritantes para o tecido pulpar no período inicial e evoluíram para condição de reparo com o passar do tempo (30 a 45 dias). Todas as pastas induziram à formação de barreiras mineralizadas amorfas. Estas apresentaram variações qualitativas quanto à presença de canalículos, retenção de resíduos, agrupamentos pulpares e inclusões celulares. A formação de barreira completa e com maior regularidade de canalículos foi vista após os períodos de 30 e 45 dias, com as pastas de

Ca(OH)<sub>2</sub> com polietilenoglicol e Ca(OH)<sub>2</sub> com polietilenoglicol-iodofórmio.

PATERSON et al., (1981) utilizaram 20 ratos, nos quais foram confeccionadas cavidades oclusais nos primeiros e segundos molares superiores. As polpas foram expostas com uma sonda e capeadas com Dycal® ou com Ca(OH)<sub>2</sub> associado ao p-mono-clorofenol (MPC) e os dentes selados com amálgama. Os animais foram sacrificados após 28 dias e as peças dentárias foram removidas e preparadas para análise histológica. Dos 17 dentes tratados com Dycal®, 13 apresentaram formação de ponte dentinária. Os autores concluíram que as polpas dos molares dos ratos responderam de forma favorável ao Dycal® e desfavorável ao MPC.

HIRSCHFELD et al., (1982) analisaram a formação de dentina de reparação em polpas de molares de ratos que foram capeadas diretamente com hidróxido de cálcio. Para isso utilizaram quinze ratos, sendo que em dez deles foram preparadas cavidades oclusais, as polpas foram expostas e sobre elas foi aplicado o Ca(OH)<sub>2</sub>. Os outros cinco ratos serviram como controle do processo normal de calcificação dentinária. Os animais foram sacrificados aos 21 e 35 dias após o pós-operatório e a análise por microscopia eletrônica de varredura revelou que o processo de reparação teve formação de nova barreira dentinária e foi caracterizado por deposição de apatita e ocorrência de nódulos de calcificação na matriz. A persistência destas características de mineralização primária, durante o período experimental, foi associada ao contato do hidróxido de cálcio com o tecido pulpar, produzindo mudanças no seu estado metabólico.

SMITH & SONI em 1982, investigaram a efetividade da calcitonina e do pó de Ca(OH)<sub>2</sub> misturado em água destilada quando aplicados sobre polpas expostas e não

expostas de ratos. Os animais foram sacrificados com pós-operatório de 1, 7, 14 e 28 dias e as polpas tratadas com  $\text{Ca(OH)}_2$  apresentaram-se mais inflamadas do que aquelas tratadas com calcitonina.

Foram demonstrados nos trabalhos de HOLLAND et al., (1978) quando utilizada a pasta de  $\text{Ca(OH)}_2$  com água obteve-se um resultado de 90% de sucesso quando comparada a outras formas de aplicação tal como os cimentos de  $\text{Ca(OH)}_2$  (n=20). HOLLAND et al., (1980) avaliaram o efeito de uma mistura de  $\text{Ca(OH)}_2$  pó e água verificando aos 30 dias a formação de ponte dentinária em 95% dos casos analisados e de acordo com PEREIRA et al., (1980) o  $\text{Ca(OH)}_2$  misturado com água destilada ou solução salina oferece maior sucesso quando comparadas com outras apresentações.

Em 1994, COX & SUZUKI, realizaram capeamento direto com  $\text{Ca(OH)}_2$  para descrever as possibilidades de proteção do complexo dentino-pulpar, e listaram as vantagens e desvantagens dos materiais à base de  $\text{Ca(OH)}_2$ , como descrito a seguir:

#### Vantagens de materiais à base de $\text{Ca(OH)}_2$

- 1 Exerce efeito bactericida ou bacteriostático.
- 2 Promove cicatrização e reparo.
- 3 O pH alcalino estimula a diferenciação celular.
- 4 Neutraliza o baixo pH dos tecidos infectados e desinfeta a dentina cariada.
- 5 Estimula sistemas enzimáticos envolvidos com a proliferação fibroblástica, migração, cicatrização e eventual reparo tecidual.
- 6 Paralisa reabsorções internas.

- 7 Em sua apresentação P.A. (pó, pró-análise) é estável sob armazenagem.
- 8 Tem baixo custo e é de fácil manipulação, com tempo de trabalho aceitável.

Pelo exposto, o  $\text{Ca(OH)}_2$  é considerado o material ideal para vedação temporária e para a medicação intracanal na terapêutica endodôntica.

#### Desvantagens de materiais à base de $\text{Ca(OH)}_2$

1. Podem dissolver-se após um ano, gerando microinfiltração cavo-superficial, propiciando o surgimento de cáries recorrentes.
2. Pode sofrer eventual dissolução durante o condicionamento ácido da dentina, nos procedimentos adesivos.
3. Podem ocorrer falhas interfaciais sob a condensação de amálgama, devido às fracas propriedades mecânicas.
4. Não libera flúor.
5. Um 89% das pontes dentinárias apresentam defeitos em túnel (porosidades) após um ano de aplicação.
6. Não adere à dentina vital.
7. Não adere aos sistemas adesivos.
8. Podem interferir na apropriada polimerização da resina composta.
9. Não apresenta efeito analgésico sobre a polpa, diferente do eugenol
10. Não é o único material capaz de estimular ou induzir à formação de dentina esclerótica, deposição de dentina reparativa ou formação de ponte dentinária.

Entretanto, pesquisas sobre novas técnicas de capeamento pulpar que promovam a cicatrização tecidual por meio da completa formação de ponte dentinária e com menor efeito citotóxico continuam sendo desenvolvidas (COSTA et al., 2000).

## 2.2.2 Materiais alternativos ao $\text{Ca(OH)}_2$

### 2.2.2.1 Agregado de Trióxido Mineral (MTA)

O agregado de trióxido mineral (MTA) surgiu no início da década de 90, como um material experimental desenvolvido por Torabinejad, da Universidade de Loma Linda, CA – EUA, e em 1998 foi aprovado pela Food and Drug Administration (FDA). O MTA indicado inicialmente como material retro-obturador e selador de perfurações de furca e intra-radiculares. No entanto, este material tem inúmeras aplicações clínicas na endodontia, que vêm sendo aindicadas devido a sua biocompatibilidade e atividade em presença de umidade (ABEDI & INGLE, 1995; BERNABÉ & HOLLAND, 2003). O MTA é um pó branco ou cinza que consiste de finas partículas hidrofílicas que endurecem na presença de umidade; e devido a sua alcalinidade, capacidade de prevenir a infiltração bacteriana e aos altos níveis de biocompatibilidade, os MTA têm sido testados como materiais capeadores diretos (TORABINEJAD & CHIVIAN, 1999).

Participam de sua composição básica o silicato tricálcico, aluminato tricálcico, óxido tricálcico e óxido de silicato, além de outros óxidos minerais e do óxido de bismuto

utilizado para dar radiopacidade ao material (ABEDI & INGLE, 1995; TORABINEJAD & CHIVIAN, 1999). A hidratação do pó resulta em um gel coloidal com pH de 12.5, o qual solidifica-se em estrutura rígida, com força compressiva chegando a 70Mpa, comparável ao IRM (Intermediate Restorative Material) e materiais restauradores intermediários à base de cimento de óxido de zinco e eugenol, após 21 dias, com menor citotoxicidade. O  $\text{Ca(OH)}_2$  quando misturado com água, ocorre uma serie de eventos com a adsorção de fibronectina aos cristais de cálcio, à semelhança do que ocorre após o capeamento com  $\text{Ca(OH)}_2$  (HOLLAND et al., 2001).

Segundo TORABINEJAD et al., (1995), como os íons cálcio e fósforo são as principais moléculas do MTA e também os principais componentes dos tecidos dentais, o material apresenta excelente biocompatibilidade, em contato com os tecidos. Por meio de análises, os autores demonstraram que, após tomar presa, o MTA passa a ser constituído por óxido de cálcio, na forma de cristais discretos, e por fosfato de cálcio, com uma estrutura amorfa, de aparência granular.

PITT FORD et al., (1996) compararam o capeamento pulpar direto, em cães, com o MTA e  $\text{Ca(OH)}_2$  (Dycal®) durante um período pós-operatório de cinco meses. Das seis polpas capeadas com MTA, todas apresentaram formação de ponte de dentina, e apenas um caso apresentava inflamação. Dos seis casos que foram capeados com Dycal®, dois apresentaram ponte, e todos apresentaram sinais de inflamação. Os autores concluíram que o MTA parece englobar qualidades de um bom capeador pulpar: estimula formação dentinária e previne microinfiltração. TZIAFAS et al., (2002), também avaliaram a resposta histológica de polpas de cães mecanicamente expostas e capeadas com MTA. Os

pesquisadores verificaram, após duas semanas, a deposição de tecido duro de aspecto osteotípico em todas as amostras e, sob essa zona, após três semanas, a formação de dentina reparativa tubular. Os autores concluíram que, embora não possa ser atribuído ao MTA um efeito específico de indução dentinária, este pode ser considerado um material capeador pulpar efetivo, por oferecer um substrato biologicamente ativo para as células pulpares e permitir a cicatrização pulpar estimulando a formação de dentina reparadora.

FARACO & HOLLAND (2001) demonstraram a superioridade do MTA em relação ao  $\text{Ca(OH)}_2$  (Dycal®), quando utilizado no capeamento de polpas de cães expostas experimentalmente. No grupo com  $\text{Ca(OH)}_2$  observou-se, na análise histológica, maior inflamação, menor frequência de formação de ponte de tecido mineralizado, infiltração de microorganismos e observação de áreas de reabsorção junto ao material. Já no grupo com MTA, observou-se formação de ponte de tecido mineralizado em todos os casos, ausência de inflamação e de microorganismos.

AEINEHCHI et al., (2002) compararam ambos os materiais no capeamento pulpar de terceiros molares de humanos e analisaram histologicamente a resposta pulpar em diferentes períodos de tempo (uma semana, dois meses, três meses, quatro meses e seis meses). Em geral, a avaliação histológica demonstrou menos inflamação, hiperemia e necrose; ponte de dentina mais espessa e maior frequência da camada odontoblástica quando se utilizou o MTA. Ressalta-se que neste caso foi utilizado um cimento de  $\text{Ca(OH)}_2$  (Dycal®, L. D. Caulk, Milford, D.E., USA).

#### 2.2.2.2 Biomateriais de fosfato de cálcio sintéticos

A hidroxiapatita e a cerâmica tricálcio-fosfato, como exemplo as  $\alpha$ -TCP ( $\alpha$ -tricalcio fosfato), têm sido propostas e testadas como agentes capeadores pulparem in vivo (JABER et al., 1991). Esses materiais foram amplamente empregados como auxiliares do reparo ósseo devido à sua biocompatibilidade e capacidade de promover nova formação óssea (BHASKAR et al., 1971). Investigações in vivo, em animais, têm mostrado que, em exposições pulparem, na ausência de infecção bacteriana, a deposição da ponte dentinária ocorre diretamente em contato com esses biomateriais de fosfato de cálcio, em contraste com a área necrótica inicial normalmente formada sob o hidróxido de cálcio (FURUSAWA et al., 1991; YOSHIBA et al., 1995).

ALLIOT-LICHT et al., (1994) avaliaram os efeitos da hidroxiapatita sobre fibroblastos de polpa humana e os compararam com os efeitos provocados pelo  $\text{Ca(OH)}_2$ . Os dados desse estudo foram relacionados ao capeamento pulpar direto, baseado no fato de que a ponte dentinária formada in vivo é depositada por células tipo fibroblastos que se diferenciam a partir do parênquima pulpar concluíram que o hidróxido de cálcio de fato produz graves alterações nos fibroblastos, justificando a necrose que ocorre in vivo e a necessidade de recrutamento de novas células para a diferenciação de odontoblastos, como foi proposto por FITZGERALD et al., 1990. A hidroxiapatita não produziu efeitos tóxicos irreversíveis. Segundo os autores, a hidroxiapatita permitiu, por meio de induções enzimáticas, a diferenciação dos fibroblastos em células mesenquimais antes de se transformarem em células responsáveis pela formação da ponte dentinária (seriam as células “tipo-odontoblastos”).

### 2.2.2.3 Moléculas bioativas ou modeladores biológicos

Entre os constituintes da dentina, encontramos diversas proteínas não-colagenosas como sialoproteína da dentina, fosfoproteína da dentina (fosforinas), GLA-proteínas (proteínas contendo gamacarboxilglutamato), proteoglicanas e glicoproteínas acídicas (BUTLER, 1992). São encontradas também, proteínas osteogênicas (OPs) (JEPSEN et al., 1997) ou osteomorfogênicas (BMPs) que correspondem a um subgrupo da superfamília de proteínas não-colagênicas conhecidas como Fator de Crescimento Transformante Beta (TGF- $\beta$ ) (LINDE, 1989). Proteínas desta família estão implicadas na diferenciação celular, morfogênese tecidual, regeneração e no reparo (RUTHERFORD et al., 1994).

As BMPs e o TGF- $\beta$  são conhecidos pelo seu potencial osteoindutor e, recentemente, muitas pesquisas têm sido feitas a fim de se compreender o papel dessas proteínas na regeneração de tecidos dentais, na diferenciação de células pulpares em células “tipo-odontoblastos” e na deposição de dentina reparadora (TZIAFAS et al., 1995; HU et al., 1998; TZIAFAS & PAPADIMITRIOU, 1998).

## 2.3 Fitoterápicos

Os princípios ativos isolados das plantas medicinais e transformados em Fitoterápicos são possíveis alternativas a terapias na conservação dos tecidos do corpo devido as suas propriedades antimicrobianas, analgésicas, antiinflamatórias e regeneradoras

celulares. Na atualidade as plantas medicinais estão sendo inseridas em alguns serviços de saúde como um recurso terapêutico possível de utilização na atenção primária à saúde (MATOS, 1994; VIANA et al, 1998; COSTA et al, 1992).

A Organização Mundial de Saúde (OMS), na conferência de Alma Ata, 1978, reconhece que países da Comunidade Européia, Ásia, Japão e Estados Unidos, têm se preocupado com o uso de vegetais com finalidades terapêuticas (YAMADA, 1998). A OMS também recomenda o uso deles aos países com biodiversidade vegetal como o Brasil (<http://www.who.int/en/>). O Conselho Federal de Medicina, consultado pela Secretária de Saúde do Rio de Janeiro, em 1995, emitiu o seguinte parecer: “A Fitoterapia é considerada método terapêutico, podendo ser usada por diversas especialidades médicas. Necessita, contudo, de indicação médica, por pressupor a elaboração de diagnóstico e a avaliação da indicação de técnicas convencionais, podendo ser executada por médicos ou profissionais habilitados sob prescrição e supervisão médica” (REIS & BOORHEM, 1998).

Descobrimientos de grande importância ao longo da história médica confirmam a necessidade da pesquisa em produtos naturais. Medicamentos utilizados na medicina como a penicilina e cefalosporina foram extraídos de *Penicillium notatum* e *Penicillium chrysogenum*, e do *Cephalosporium* respectivamente, e deram uma grande contribuição à terapêutica antimicrobiana moderna (INGRAHAM & INGRAHAM 1995). Outros importantes fármacos foram desenvolvidos a partir de plantas, a morfina derivada da *Papaver somniferum*, derivados da *Valeriana officinalis* com propriedades calmantes e antiespasmódicos (FERNANDEZ et al. 2004), os antiinflamatórios derivados da *Calendula officinalis*, a própolis com suas importantes propriedades antiinflamatórias, antimicóticas,

antimicrobianas (SANTOS et al., 2004; CUESTA et al., 2005), entre tantos outros que estão sendo pesquisados.

Dentro da grande biodiversidade vegetal destaca-se o Aloe vera L. interessante pelo conteúdo na sua composição e pelas suas propriedades antimicrobianas, antiinflamatórias e regenerativas de grande valor na medicina.

#### 2.4 Aloe vera L., Aloe barbadensis Miller , Aloe vera vulgaris ou sábila

O Aloe vera L., é um vegetal angiosperma pertencente á família Liliacea como o lírio, alho, cebola e aspargos. É uma planta originária do mediterrâneo e no continente americano pode ser encontrada na América do Sul, América Central e as Antilhas. Existem mais de 350 espécies

reconhecidas no mundo, sendo usadas como fitoterápicos: a Aloe succotrina, a Aloe africana, a Aloe saponaria, a Aloe Sinensis e a Aloe ferox com pontas aceradas. As propriedades terapêuticas têm sido atribuídas para as espécies Aloe vera L. e a Aloe arborescens Miller ( ROIJ, 1988 ; REYNOLDS & DWECK, 1999; PEUSER, 2003).



Figura 1. Planta de Aloe vera L.

Em 1997, ATHERTON determinou os componentes da Aloe vera L. e achou os seguintes: aminoácidos, antraquinonas, enzimas, hormônios, ligninas, minerais, salicilatos, saponinas, esteróides, açúcares e vitaminas. Estes componentes foram obtidos da folha de Aloe vera L. Epidermes com seiva contida nos túbulos, a substância mucilaginosa com o gel branco localizado internamente.

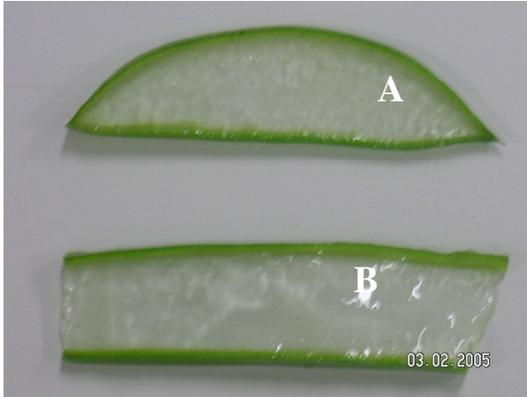


Figura 2. Corte transversal (A) e longitudinal (B) da folha fresca do Aloe vera L.

Tabela 1. Análise quantitativa dos componentes minerais e aminoácidos do Aloe vera L. (PEUSER, 2003).

COMPONENTE	NOME	VALOR (mg/l)
Minerais	Cálcio	18,60
	Ferro	44,00
	Carbonato de potássio	31,40
	Magnésio	3,10
	Manganês	4,50
	Sódio	12,70
	Zinco	1,70
	Iodo*	
Aminoácidos	Acido Aspartico	1,75
	Acido Glutâmico	4,70
	Asparagina	3,29
	Alanina	0,91
	Isoleucina	0,07
	Fenilalanina	0,08

Treonina	0,33
Prolina	0,25
Valina	0,36
Leucina	0,09
Glutamina	0,63
Serina	1,27
3-Alanina	0,06
Lisina	0,09
Arginina	0,12
Tirosina	0,06
Cistina	0,04

O autor sugere que o sumo da Aloe vera L. pode variar segundo região, tipo de solo e quantidade de chuva.

\* Quantidade não determinada em peso.

Em 2004 NI et al., isolaram e caracterizaram os componentes estruturais da polpa da folha da Aloe vera L. cortando em seções longitudinais e transversais amostras de 5 um e coradas com azul de toluidina e observadas à microscopia de luz. O autor observou que a maior parte da polpa consistiu em água e que o pacote vascular está bem definido.

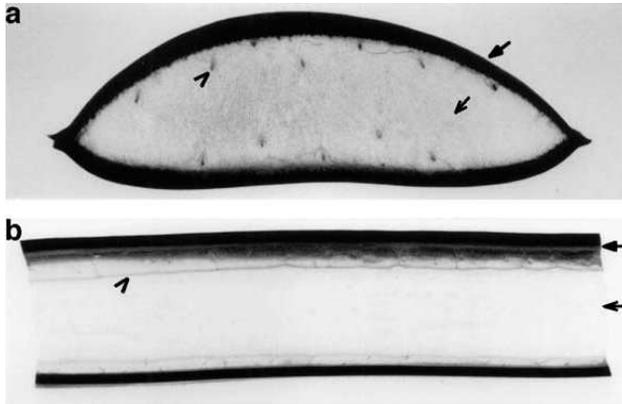


Figura 3. Macroscopia da folha de Aloe vera L. em um corte transversal (a) e em um corte longitudinal, (b) (corte transversal, as setas fechadas superiores indicam a casca, setas fechadas inferiores indicam a polpa; setas abertas indicam o pacote vascular (NI et al., 2004).

Microscopia ótica do corte histológico da polpa fresca de Aloe vera L.

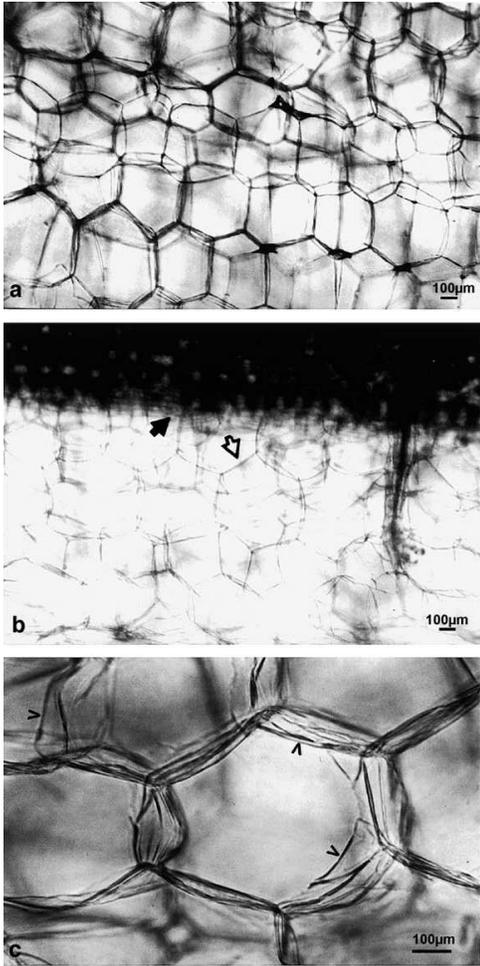


Figura 4. Microscopia ótica do corte histológico da polpa fresca de Aloe vera L. (seções de 2–3 mm). (a) (4X) Visão da polpa; (b) (4X) polpa junto com epidermes, (c) (10X) polpa e epidermes. As setas cheias indicam a casca verde, a seta vazia indica a polpa clara e cabeças de seta abertas indicam a parede das celas do mesófilo da polpa (NI et al., 2004).

#### 2.4.1 Acemannan (ACM)

O acemannan (ACM) é um polissacarídeo  $\beta(1-4)$ -acetilmannan extraído e isolado da polpa da folha do Aloe vera L. A este elemento atribui-se a maior parte a ação do Aloe vera L. de grande utilidade na cicatrização de feridas e nos tratamentos de fibrosarcomas em caninos e em felinos com resultados efetivos atribuídos as suas propriedades antitumorais e imunoestimulantes (DJERABA & QUERE, 2000). Esse polissacarídeo induz à proliferação de macrófagos e a produção de citosinas como Il-1, Il-6 e TNF-1 aumentando sua atividade fagocitária melhorando a resposta inflamatória (ZHANG & TIZARD, 1996).

Em 2001, LEE et al., verificaram as propriedades imunoestimulantes do acemannan mediante a indução à maturação de células dendríticas imaturas importantes na primeira linha de defesa do organismo.

#### 2.4.2 Efeito antimicrobiano

Em 1964, LORENZETTI et al., determinaram que a Aloe vera L. tem propriedades bacteriostáticas, inibindo significativamente o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium xerose* e *Salmonella paratyphy*.

SANCHEZ, em 1980, examinaram a atividade antimicrobiana do suco das folhas frescas de Aloe vera L. frente aos Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Conitebacterium xerose e a efetividade do pó das folhas secas contra Pseudomonas aeruginosas e Proteus vulgaris. O autor sugere que os cristais de Aloe vera L. integrados à composição de colutórios bucais são, possivelmente, pelas suas características antibacterianas e antiinflamatórias, uma boa alternativa para o controle da placa dental, diminuição da inflamação gengival.

Posteriormente, em 1982, ROBSON et al., estudaram as propriedades antimicrobianas de extrato de Aloe vera L. em concentrações inibitórias mínimas. As concentrações de 60% tiveram atividade bactericida para Pseudomona aureginosa, Kleisbella pneumoniae, Serratia marcecens, Citrobaacter species, Enterobacter coclae, S. pyogenes e Streptococcus agalactiae. O extrato em concentrações de 70%, 80% e 90% mostrou ser bactericida para Streptococcus aureus, Escherichia coli e Streptococcus faecalis e Candida albicans, respectivamente.

#### 2.4.3 Efeito antiinflamatório

Estudos farmacológicos identificaram como ingredientes ativos em Aloe vera L., carboxipeptidase que inibe a bradiginina, salicilatos, lactato de magnésio e inibidores de tromboxano A<sub>2</sub>. O lactato de magnésio inibe in vivo a conversão da histidina em histamina dentro das células do tecido conjuntivo denominadas mastócitos e atua ao inibir a histidina descarboxilase. A histamina é conhecida como um vasodilatador gerado pelo organismo em contato com um antígeno, causando edema acompanhado de prurido, os quais são sinais de

alergia. Esta ação fornece ao Aloe vera L propriedades antipruriginosas e antialérgicas efetivas (HIRATA & SUGA, 1997).

#### 2.4.4 Efeito analgésico

Foram comprovados nos estudos de FUJITA et al., 1976; ROBSON et al., 1982; HIRATA & SUGA, 1997 os efeitos analgésicos no tratamento de queimaduras, úlceras provocadas por radiação, picadas de insetos, hematomas, desarranjos digestivos, e acne.

FUJITA et al., (1976) reportaram que a Aloe vera L. inativa significativamente a bradicinina in vitro. Os mesmos autores referem-se à existência na Aloe vera L., de carboxipeptidase, capaz de hidrolisar a bradicinina e angiotensina I in vitro. A bradicinina é um vasodilatador e potente agente produtor da dor. Também relatam que a carboxipeptidase da Aloe vera L. pode inibir a bradicinina in vivo, diminuindo o sitio da inflamação aguda.

DZINK et al., 1988; CARLINE, 1989, utilizaram Aloe vera L. em gel in vitro para oxidar o ácido araquidônico. A presença de ácido acetil salicílico foi verificada como parte

dos seus componentes e como também compostos orgânicos tais como: emodin, Aloe vera-emodin e aloin. Os salicilatos são analgésicos e antiinflamatórios que inibem a produção de prostaglandinas ao acetilar a ciclooxigenase (KLEIN, et al., 1988).

Em um estudo in vivo com ratos (FURONES et al., 1996) estudaram as propriedades analgésicas, inoculando, por via oral, extratos aquosos liofilizados de Aloe vera L. Foi encontrada uma diferença significativa na capacidade analgésica em relação aos controles com indometacina e placebo.

#### 2.4.5 Efeito Antioxidante

A eficácia da suplementação da dieta com Aloe vera L em ratos mostraram que o colesterol hepático foi suprimido significativamente em aproximadamente 30%, o qual significou uma diminuição do dano produzido pelos radicais livres (LIM et al., 2003).

#### 2.4.6 Efeito antiulceroso

BLITZ et al., (1963), relataram o uso benéfico do parênquima gelatinoso do Aloe vera L. no tratamento da úlcera péptica. Experimentos mediante a administração de sucos e extratos da planta, em animais de laboratório, demonstraram a diminuição significativa do dano na mucosa gástrica previamente induzido de ratos.

#### 2.4.7 Efeito regenerador celular

SEYGER et al., 1998, fez um estudo comparativo, in vivo, em pacientes com psoríase avaliando a eficácia e os efeitos adversos de uma formulação contendo na formulação Aloe vera L. Os resultados mostraram uma redução visível das lesões tratadas e diminuição da descamação da pele e não foram observados efeitos colaterais, embora a diferença não tenha sido significante em relação aos controles.

#### 2.4.8 Efeito Laxante

ODES & MADAR, 1991, avaliaram o efeito de uma preparação laxativa composta em parte de Aloe vera L em 35 pacientes com constipação crônica escolhidos aleatoriamente para receber cápsulas que contêm celandin-aloevera-psilium, ou placebo. Os resultados deste estudo demonstram que a preparação é um laxante efetivo no tratamento de constipação.

### 2.5 Aloe vera L. na Odontologia

Em 1994 GARNICK, et al. relataram mudanças favoráveis nos casos de sensibilidade de raiz usando pastas de dentes que contêm Aloe vera L. e alantoin.

Um estudo realizado na área da periodontia com 40 pacientes jovens, mostrou diminuição significativa da formação de placa bacteriana e da inflamação gengival do Aloe vera L. mediante o uso de colutórios contendo Aloe vera L. a 50 %, duas vezes por dia, durante 30 dias (VILLALOBOS, et al., 2001).

No estudo prospectivo de POOR et al., 2002; comparou-se a incidência de osteíte alveolar pós-exodontia de alvéolos de 607 pacientes tratados com um hidrogel a base de Aloe vera L., houve redução estatisticamente significante das osteítes alveolares encontradas nos pacientes quando compararam a uma formulação de Gelfoam com clindamicina.

### 3. OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho é preparação de um material a base de Aloe vera L., verificar sua atividade antimicrobiana in vitro e histopatológico da resposta pulpar após o capeamento em dentes de rato in vivo.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Preparação de um material a base de Aloe vera L.
2. Avaliar a atividade antimicrobiana do material obtido
3. Verificar o tipo de reposta inflamatória no tecido pulpar após a aplicação de Aloe vera L. nos períodos de 1, 7, 14 e 30 dias
4. Verificar a formação de ponte dentinária 30 dias após capeamento pulpar

### 4. MATERIAIS E METODOS

#### 4.1 Seleção da planta

O Aloe vera L. foi selecionado com critérios da literatura e a orientação de um botânico, se escolheu uma planta saudável, de procedência Belo Horizonte (Jardim Botânico da UFMG). A idade da planta variando entre quatro cinco e anos, após dar flor é considerada madura (LARRINOVA et al., 1990; PEUSER, 2003).

## 4.2 Preparação do material a base de Aloe vera L.

Folhas da planta foram retiradas, lavadas e colocadas em água destilada durante 8 horas para eliminar a aloina (substância amarela). Imediatamente a epiderme da folha foi retirada com bisturi deixando isolada a polpa, (VILLALOBOS & SALAZAR, 2001).

Após disso tomaram-se fragmentos da polpa, procedeu-se a liquidificação, foram coados em coadores de vários calibres e filtrados por pressão negativa até obter um suco líquido puro. Procedeu-se a fazer três preparações que conservem os princípios ativos da planta e que tenham características físicas diferentes.

### 4.2.1 Liofilização do Aloe vera L.

Realizada no Laboratório de Química Inorgânica, segundo os padrões estipulados foi empregada à técnica de liofilização porque este processo de sublimação líquida que conserva e concentra os princípios ativos da planta, estabilizando-a e possibilitando uma atividade mais efetiva, para sua previa aplicação no estudo *in vitro* e posteriormente *in vivo*. Além disso, o material liofilizado foi esterilizado com raios gama no Centro de Desenvolvimento Tecnológico Nuclear (CDTN) evitando assim a desnaturação dos princípios ativos (BARTOLOTTA et al., 2005). Logo disso o pó liofilizado foi colocado em eppendorfs e armazenado à temperatura de 4°C.

### 4.2.2 Preparação do gel de Aloe vera L. a 10% com hidroxietil-celulose 2%

Para a preparação do gel a hidroxietil-celulose foi dissolvida em um volume de água

destilada a 2% (p/v) a uma temperatura de 50 °C, a qual foi submetida à agitação mecânica com agitador magnético. O Aloe vera L. liofilizado foi dissolvido em propilenoglicol 0,05% (v/v). Em seguida, foram misturadas as duas soluções e finalmente adicionou-se metilparabeno em solução aquosa 0,05% (p/v) para a obtenção final do gel, deixando repousar por 24 horas a temperatura ambiente para sua completa polimerização.

#### 4.2.3 Preparação do sumo puro de Aloe vera L

Foram tomados os fragmentos da polpa, liquidificados, coados e filtrados a pressão negativa, depois foram colocados em ependorfs para sua imediata utilização na experiência.

#### 4.3 Esterilização do material e instrumental.

Todo o material usado foi esterilizado em autoclave (121 °C) por um período de 30 minutos

#### 4.4 Aspectos éticos

O projeto protocolado sob o nº 076/04 foi aprovado em reunião de 01/09/2004 pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais (CETEA/UFMG).

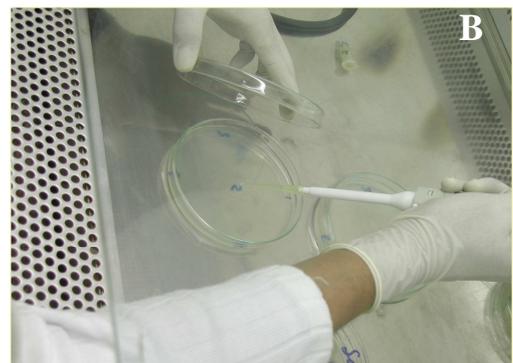
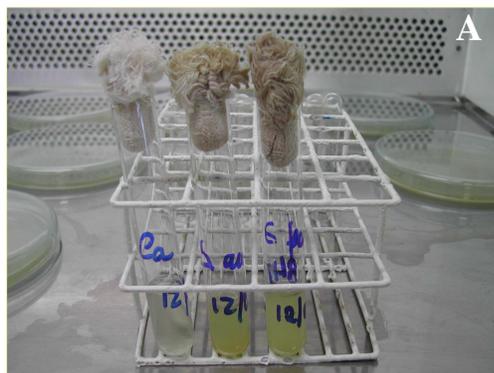
#### 4.5 Avaliação antimicrobiana de Aloe vera L. in vitro

A susceptibilidade das formulações de Aloe vera L foi realizada frente alguns dos microorganismos presentes na cavidade bucal obtidos do Laboratório da Microbiologia da FO-UFMG. Os testes de difusão em ágar se realizaram utilizando os seguintes microorganismos: *Streptococcus mutans* (UFRJ), *Enterococcus faecalis* (ATCC14508), *Staphylococcus aureus* (ATCC27664), *Lactobacillus casei* (ATCC 7469), *Candida albicans* (ATCC 18804) e *Actinomyces actinomycetemcomitans* (Y4FDC) seguindo as técnicas descritas por HINDLER & JOGERSEN, 1995. Os microorganismos foram semeados em ágar específicos infuso cérebro-coração (BHI) para bactérias e Sabouraud para fungos. A partir das amostras previamente preparadas foram definidos os seguintes grupos testes:

1. Gel de Aloe vera L. ao 10% misturados com hidroxietil-celulose ao 2%
2. Aloe vera L. liofilizado (30mg).
3. Sumo puro do Aloe vera L.

Controles positivos: amoxicilina com ácido clavulânico (*E. faecalis*, *S. aureus*, *L. casei* e *A. actinomycetemcomitans*), clorexidina (*S. mutans*) e fluconazol (*C. albicans*), álcool 70° GL como bacteriostático e água como controle negativo.

Metodologia para avaliação antimicrobiana de Aloe vera L. in vitro



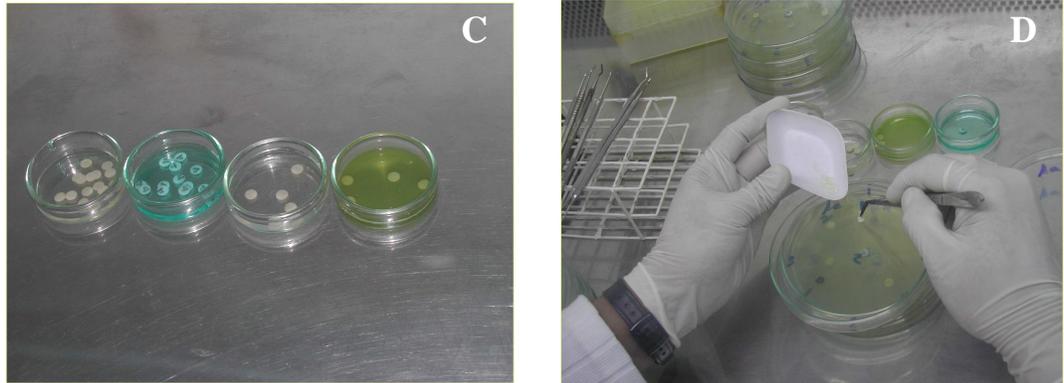


Figura 5. Etapas da metodologia utilizada nos testes microbiológicos: (A) microorganismos; (B) semente dos micrororganismos; (C) controles e (D) Aloe vera L. liofilizado colocado na placa.

Os resultados foram verificados após 6, 12, 18 e 24 horas de incubação e analisados estatisticamente pelo método Kruskal Wallis.

#### 4.6 Seleção do animal

Foram utilizados ratos machos adultos de espécie *Rattus norvegicus*, da ordem Rodentia e linhagem Wistar, com idade de 120 dias aproximadamente e com peso de 250 até 270 gramas, procedentes do Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG (CEBIO). As condições de manutenção foram padronizadas segundo as normas de alimentação e água ad libitum, temperatura entre 23 e 25 °C e em ciclo claro/escuro de 12/12 horas. Foram divididos em três grupos, descritos a seguir:

Grupo 1: Aloe vera L. liofilizado e esterilizado com raios gama.

Grupo 2: Controle positivo, feito com hidróxido de cálcio P.A. com água destilada.

Grupo 3: Controle negativo, exposição sem nenhuma substância capeadora.

Realizado na Faculdade de Odontologia e no Laboratório de Bioquímica e Imunologia do ICB da UFMG. Toda a experimentação foi realizada nos primeiros molares superiores direitos e esquerdos do rato.

#### 4.7 Capeamento pulpar direto com Aloe vera L. em dentes de ratos

##### 4.7.1 Estudo piloto

Realizado em 10 dentes de ratos, houve uma perda de 20% e um sucesso de 80%.

##### 4.7.2 Cálculo amostral

O cálculo do tamanho da amostra (n) foi realizado de acordo com WHO 1992; KIRKWOOD (1996) e PEREIRA (1995) e baseados no estudo piloto que mostrou nível de prevalência de 80% , o nível de significância (1,96) e a precisão requerida para a estimativa (0,1)

$$n = (Z1-Z2)^2 \frac{p(1-p)}{(d)^2}$$

$$n = (1.96)^2 \frac{0,8(0,2)}{(0,2)^2}$$

$n = 15.36 \Rightarrow$  16 dentes como mínimo

$n \text{ final} = 16 + 20\% (16) \Rightarrow$  20 dentes por grupo

O n para o estudo foi de 16 dentes como mínimo por grupo e adicionando o 20% de perdas (3,2  $\Rightarrow$  4) o n final foi de 20 dentes, em nosso estudo o n foi de 24 dentes em cada grupo, concordando ainda com o CETEA na ética de pesquisas em animais em relação às propostas para a utilização de novos materiais.

#### 4.7.3 Anestesia do animal

Os ratos foram anestesiados por injeção intramuscular com uma seringa estéril de 1ml no músculo da coxa uma formulação composta por 10ml de anestésico (Ketamina 10%) e 7,5ml de Relaxante muscular (Xilazina 10%) em uma quantidade de 0,1ml/100g do peso do rato (MALTOS, 2004).

#### 4.7.4 Imobilização na mesa de procedimento

Uma mesa operatória foi padronizada e construída especialmente para trabalhar em dentes de ratos seguindo técnica descrita por HOUSTON (1964), SAMPAIO (1967) e OLIVEIRA

(2000). O animal foi colocado na mesa de procedimento em posição supina e contido com fita crepe nas quatro patas.

#### 4.7.5 Isolamento absoluto

O isolamento absoluto foi realizado com grampos de 9mm de comprimento por 4mm de espessura adaptado ao dente do rato usando dispositivos específicos estéreis. A seguir foi colocado o dique de borracha (Madeitex®) desinfetado com álcool iodado, deixando secar por 2 minutos e lavado com bolinha de algodão estéril embebida em água destilada.

#### 4.7.6 Preparação da cavidade

A abertura foi feita aprofundando a parte ativa da broca cone invertida N<sup>o</sup> 34 de baixa rotação (SS White®) até conseguir uma Classe I na face oclusal do dente com refrigeração a ar intermitentemente (MALTOS, 2004).

#### 4.7.7 Exposição pulpar

Os dentes escolhidos foram o primeiro molar superior direito e esquerdo. A exposição pulpar foi feita com sonda exploradora (Maillefer®) esterilizada e padronizada com uma angulação da parte ativa. Logo foram lavados com água destilada e secados até conseguir a hemostasia com bolinha de algodão estéril.

#### 4.7.8 Capeamento Direto

Após a exposição, foram colocados os materiais de acordo com grupos previamente definidos (Grupo 1 com Aloe vera L., grupo 2 com  $\text{Ca(OH)}_2$  e grupo 3 controle negativo) e imediatamente foi colocada uma matriz metálica previamente esterilizada com diâmetro padronizado como interfase para proteger o material de capeamento da restauração com amalgama (OLIVEIRA, 2000).

#### 4.7.9 Restauração

As obturações de todos dentes foram feitas com amalgama de prata em cápsula (G580®) e condensado com ligeira pressão e brunido ao final.

#### 4.8 Sacrifício do animal e remoção maxilar

O sacrifício do animal foi realizado previa anestesia, com injeção intramuscular da mistura de 10ml de anestésico (ketamina 10%) e 7,5ml de relaxante muscular (xilazina 10%) em uma quantidade de 0,1ml/100g do peso do rato (MALTOS, 2004). Usou-se a técnica de deslocamento cervical (CETEA-UFMG, 2004) nos períodos de tempo predeterminados (Tabela 2). Os maxilares foram removidos e fixados em solução de formaldeído (formol-10%-glutaraldeído) por 48 horas (ØRSTAVIK & MJÖR, 1988).

Etapas da metodologia do capeamento pulpar direto in vivo

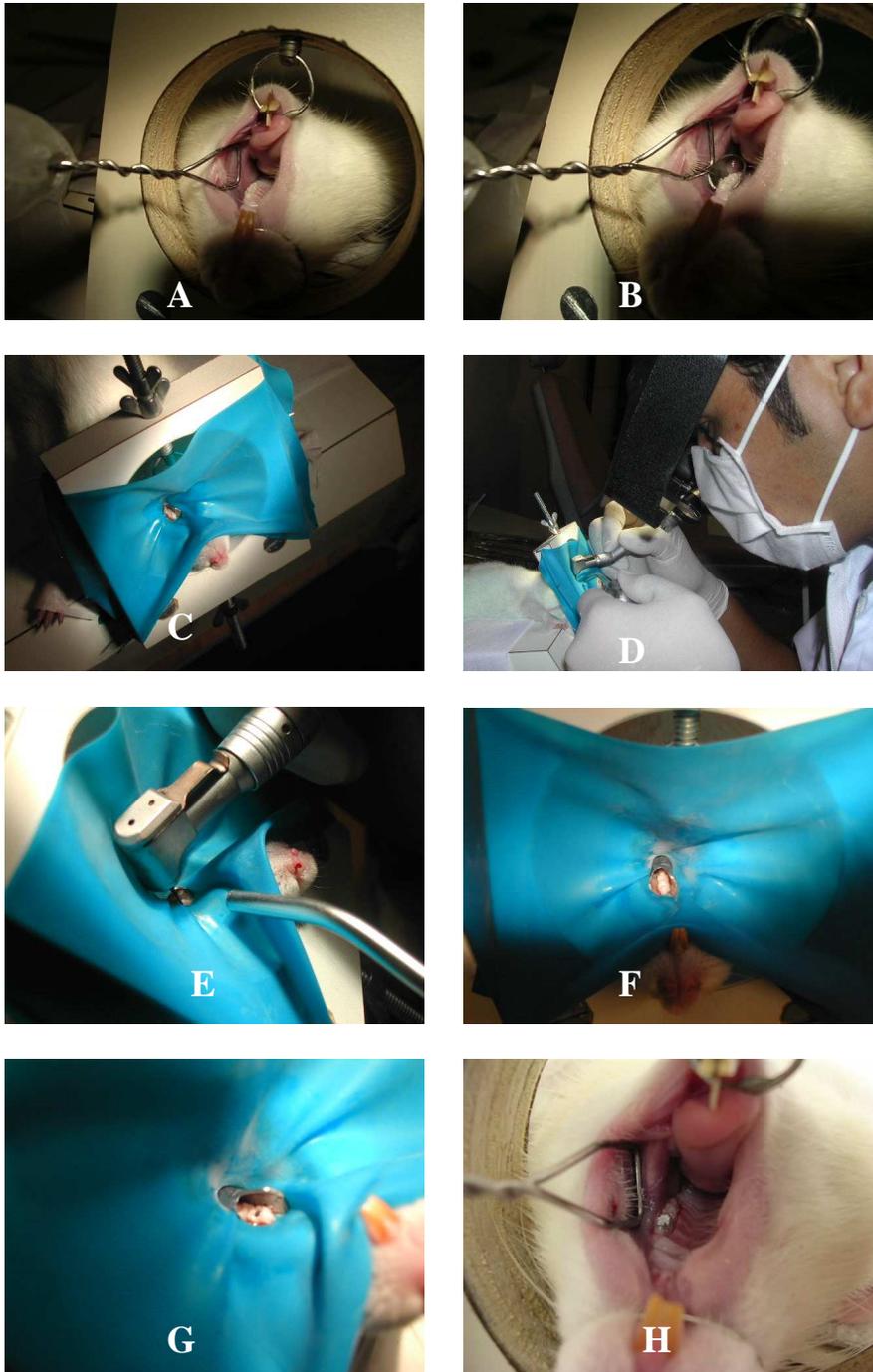


Figura 6. Etapas da metodologia in vivo do capeamento direto no primeiro molar superior esquerdo do rato: (A) Animal anestesiado na mesa cirúrgica; (B) e (C) isolamento absoluto do primeiro molar superior esquerdo; (D) e (E) preparação da cavidade; (F) exposição; (G) colocação dos materiais e (H) restauração com amalgama de prata.

Tabela 2. Distribuição dos animais de acordo com os dias de sacrifício, após capeamento pulpar.

Dias	Número de dentes em relação ao tempo				Total
	1	7	14	30	
Material					
Aloe vera L. Liofilizado	6	6	6	6	24
Ca(OH) <sub>2</sub>	6	6	6	6	24
Controle negativo	6	6	6	6	24
Total	18	18	18	18	72

## 5. Processamento Histológico

### 5.1 Descalcificação dos dentes

Os maxilares foram seccionados e os dentes foram colocados em EDTA ao 10% durante 35 dias com períodos de troca cada quatro dias até conseguir uma consistência adequada.

Realizado no laboratório da Faculdade de Medicina da UFMG. O processamento histológico foi realizado em triplicata pelos métodos histotécnicos de rotina.

- a. Desidratação progressiva em álcool etílico de 60% até 99.6%.
- b. Diafanização com xilol como reagente intermediário
- c. Impregnação em parafina.
- d. Inclusão em parafina.
- e. Microtomia: cortes de 5 micrometros
- f. Coloração pela hematoxilina-eosina.

#### 6. Avaliação da resposta pulpar

Os cortes histológicos foram observados após 1, 7, 14 e 30 dias, sendo determinados com a finalidade de avaliar a resposta pulpar e ter parâmetro de comparação com outros estudos que avaliaram materiais empregados no capeamento pulpar (ALLE et al., 1984; HEYS et al., 1990; SAZAK et al., 1996). A evolução da resposta tecidual após o capeamento segue uma serie de eventos desde a inflamação aguda até a resolução e, em alguns casos, a formação de ponte dentinária.

A avaliação histopatológica foi feita em microscópio ótico binocular Zeiss® por apenas um patologista. O patologista responsável pela avaliação dos cortes histológicos, não tinha conhecimento prévio de suas identificações, quanto ao grupo e subgrupo a que pertenciam, nem do período de avaliação após a exposição da polpa dental. Alem disso foi aplicado o Teste de Kappa intraexaminador (HUNT, 1986; EKLUND et al., 1991).

Os critérios para a avaliação e classificação das alterações teciduais pulparem foram adaptados de ØRSTAVIK & MJÖR (1988). Quando presentes, as alterações histopatológicas observadas foram classificadas em:

- a) Infiltrado inflamatório agudo – quando se observou um predomínio de células polimorfonucleares neutrófilos (PMN), com ou sem piócitos, e áreas de necrose tecidual.
- b) Infiltrado inflamatório crônico - quando se observou um predomínio de células inflamatórias mononucleares constituídas por linfócitos, plasmócitos e macrófagos.
- c) Presença ou ausência de dentina reparadora no grupo de 30 dias (acrescentado pelos autores).

Os critérios para a avaliação qualitativa da formação de ponte dentinária foram os seguintes

- a) Presença de substância mineralizada organizada na área de exposição.
- b) Presença de algumas áreas de substância mineralizada organizada sem organização na área de exposição.
- c) Ausência de substância mineralizada na área de exposição.

Com exceção da análise histopatológica feita pelo patologista e a escolha da planta com orientação do botânico; todas as etapas desta pesquisa desde o procedimento in vitro até o capeamento direto in vivo foram feitas pelo mesmo pesquisador.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Material a base de Aloe vera L.

Em relação ao método de preparação do material a base de Aloe vera L. observou-se que após a liquidificação da polpa da folha do Aloe vera L. e obtenção do sumo puro, houve uma mudança de cor de branco transparente para lilás após duas horas, quando exposto ao meio ambiente. Isto pode ser explicado pela oxidação e degradação precoce influenciada pela temperatura o ar e a luz.

A preparação do Gel de Aloe vera L. a 10% em hidroxietil-celulose a 2% mostrou-se como um material viscoso, manipulável e estável. O alto peso molecular do polímero usado pode estar influenciando na preservação dos princípios ativos evitando a oxidação (POLYMERS, 2003).

O método de liofilização imediata após liquidificação mostrou-se estável, pois esta técnica sublima a água congelada, evitando assim a oxidação, preservando e concentrando os princípios ativos.

### 7.2 Atividade antimicrobiana

Os resultados da atividade antimicrobiana estão apresentados na Tabela 3 e 4. Dos materiais testados em ordem decrescente de atividade, em todos os períodos de tempo avaliados, o Aloe vera L. liofilizado mostrou ser o mais eficaz inibição do crescimento

bacteriano. Esse foi seguido pelo gel de Aloe vera L. 10% com hidroxietil-celulose ao 2% e do sumo obtido diretamente da folha. Houve diferença estatisticamente significativa na atividade antimicrobiana da preparação liofilizada sobre as outras duas preparações ( $p < 0,05$ ).

O Aloe vera L. liofilizado 30 mg apresenta-se efetivo como agente antimicrobiano natural com um halo de inibição de  $12.5 \pm 1$  mm.

Em geral a atividade antimicrobiana demonstrada pelo método empregado nesta pesquisa foi bacteriostática frente a bactérias e antifúngica frente aos fungos e essa ação foi eficaz nas primeiras 24 horas.

Das três preparações testadas in vitro se determinou que a melhor de todas foi o Aloe vera L liofilizada, em peso de 30 mg, verificando-se um halo de inibição de  $12.5 \pm 1$  mm em media nos microorganismos testados, por tanto, cumprindo com as normas e hierarquia na pesquisa experimental este material será usada no experimento in vivo avaliando histologicamente a resposta pulpar após capeamento pulpar direto.

Tabela 3. Média dos halos de inibição em milímetros, após 6 horas (n=3).

Materiais	S. mutans	C. albicans	E. faecalis	L. casei	S. aureus	A. a
Aloe Liofilizado	13,5	12,2	13,7	12,0	13,5	13,0
Aloe Gel	8,5	7,8	8,8	7,5	8,2	8,0
Aloe sumo	7,0	6,0	6,5	6,0	6,5	6,5
Álcool 70°GL	6,2	5,5	6,0	6,2	6,0	6,0
Água destilada	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Controle positivo	17,0	17,2	17,5	17,0	17,5	16,7



Tabela 4. Média dos halos de inibição em milímetros, após 24 horas (n=3).

Após 24hr	S.mutans	C.albicans	E.faecalis	L.casei	S.aureus	A.a
Aloe Liofilizado	14,2	12,5	14,3	13,2	14,2	14,0
Aloe Gel	9,0	8,5	9,5	8,0	9,2	8,7
Aloe sumo	6,5	5,7	6,3	5,8	6,1	6,2
Álcool 70°GL	6,2	5,5	6,0	6,2	6,0	6,0
Água destilada	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Controle positivo	17,0	17,2	17,5	17,0	17,5	16,7

Resultados da atividade antimicrobiana com preparações de Aloe vera L.

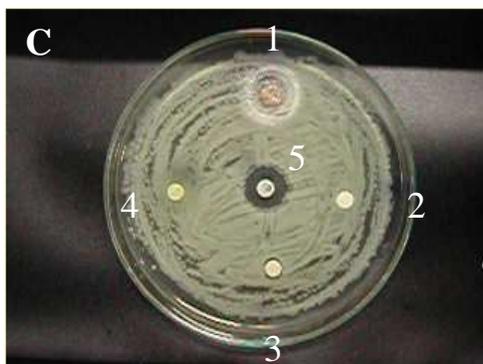
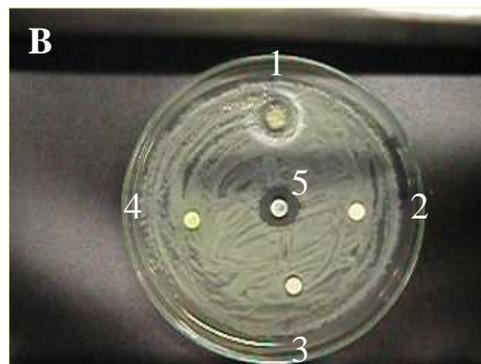
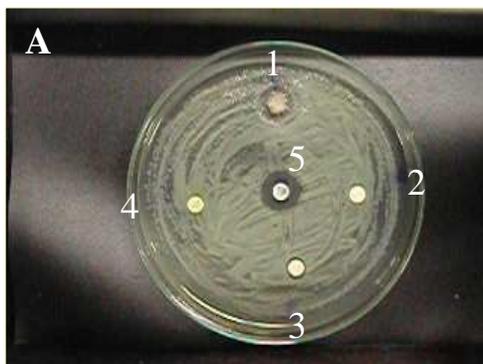


Figura 7. Halos de inibição no teste de difusão em ágar da atividade antimicrobiana com preparações de Aloe vera L. frente *Actinobacillus actinomycetencomitans* (1) Aloe liofilizado, (2) água, (3) álcool, (4) Aloe sumo (5) controle positivo: após 6 h (A); 12h (B); 18 h (C) e 24 h (D).

### 7.3.1 Corte histológico do dente hígado do *Rattus norvegicus*

Corte histológico do dente de rato sem nenhuma intervenção



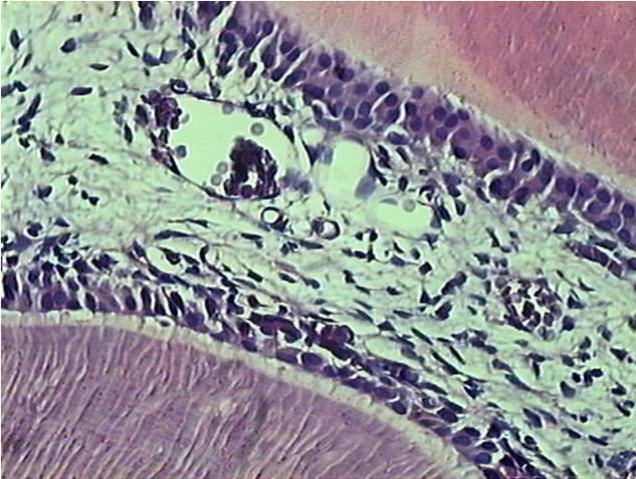


Figura 8. Microscopia ótica de corte histológico do dente de rato sem nenhuma intervenção:  
(A) Aumento 10x, c: câmara pulpar, d: dentina; B) 40x, a: camada de odontoblastos, b: pré-dentina (5 $\mu$ ) H&E.

#### 7.4 Capeamento pulpar com Aloe vera L. liofilizado em dente de rato

##### 7.4.1 Resposta pulpar com Aloe vera L. liofilizado após 1 dia

Um dia após a exposição e capeamento pulpar 100% dos cortes, observou-se na área da exposição infiltrado inflamatório agudo (PMN). Subjacente ao infiltrado agudo, tecido conjuntivo frouxo com vasos hiperemiados e áreas de hemorragia.

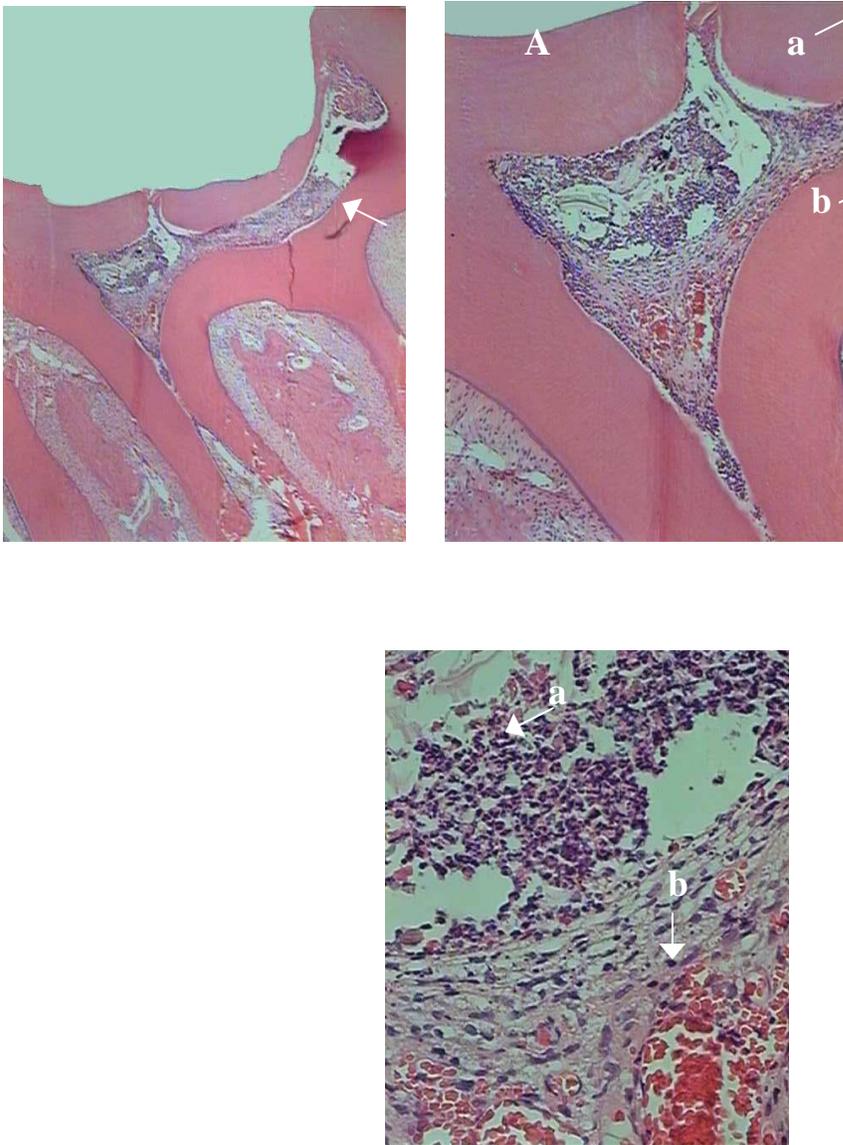


Figura 9. Corte histológico do dente de rato capeado com Aloe vera L. liofilizado após 1 dia (A) Aumento 4X: (a) Exposição pulpar; (B)10X (a) Exposição pulpar, (b) Infiltrado inflamatório agudo; (C) 40X (a) infiltrado agudo em detalhe (b) vasos hiperemiados. (5 $\mu$ ) H&E.

#### 7.4.2 Resposta pulpar com Aloe vera L.após 7 dias

No sétimo dia, observou-se, em 100% dos cortes analisados, infiltrado inflamatório agudo (PMN) no local da exposição com mínimas áreas de necrose, e subjacentemente, foi

verificado infiltrado inflamatório crônico moderado, vasos hiperemiados e áreas de hemorragia. O restante da polpa apresentou-se compatível com as características normais do tecido conjuntivo frouxo.

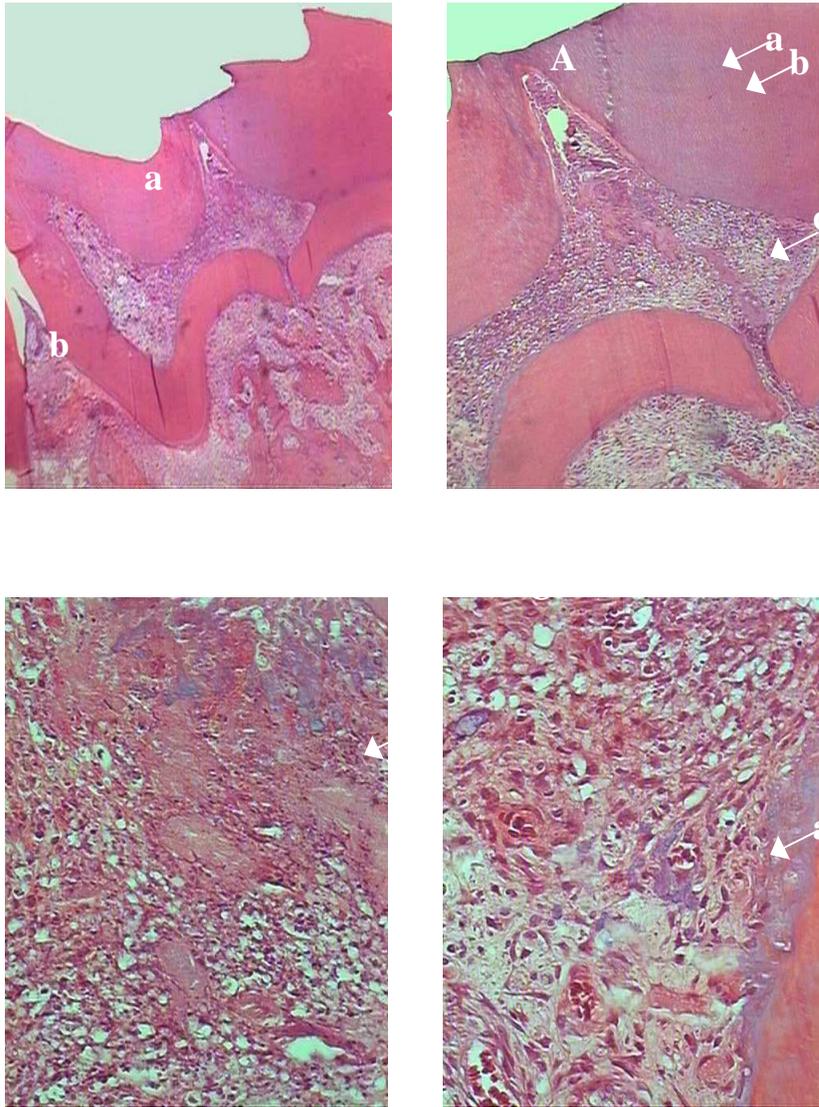
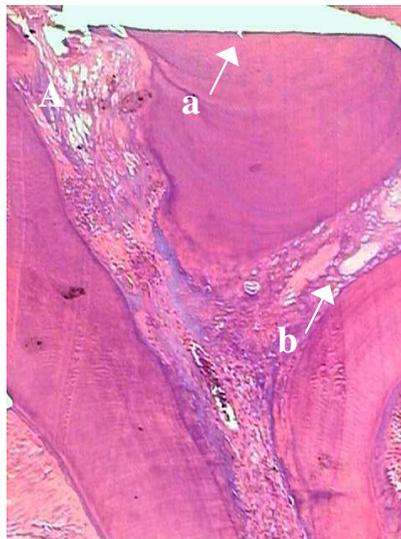
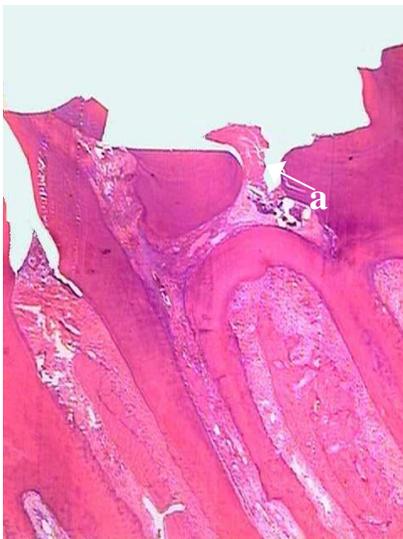


Figura 10. Corte histológico do dente de rato capeado com Aloe vera L. liofilizado após 7 dias, (A) Aumento 4X : (a) Exposição pulpar; (B)(a) Exposição pulpar em detalhe (b) Infiltrado inflamatório agudo (c) infiltrado inflamatório crônico (C), (a) substância amorfa (D) (a) tecido conjuntivo frouxo. (5 $\mu$ ) H&E.

### 7.4.3 Resposta pulpar com Aloe vera L.após14 dias

Aos 14 dias após capeamento com Aloe vera L., observou-se na área de exposição infiltrado inflamatório crônico escasso em todos cortes, subjacentemente formação de tecido mineralizado. PMN neutrófilos ocasionais, vasos dilatados e hiperemiados. O tecido pulpar restante apresentou-se compatível com a normalidade.



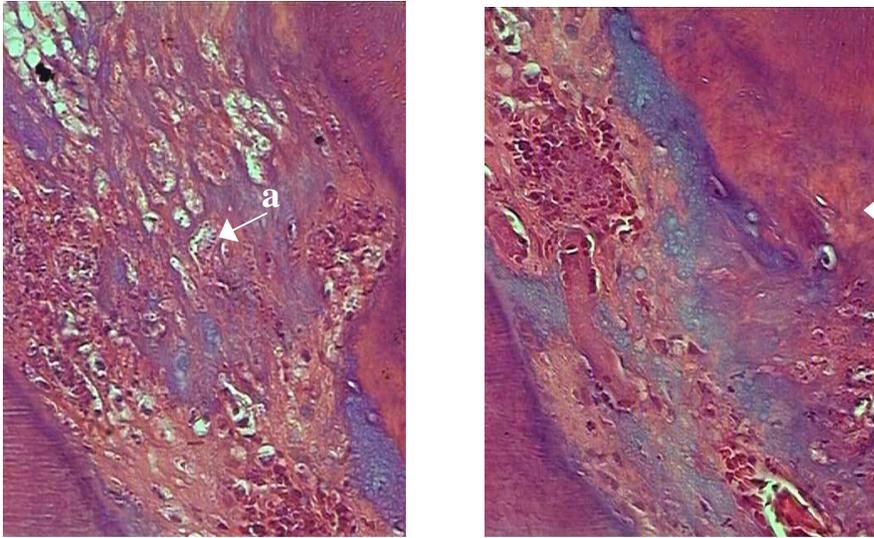


Figura 11. Corte histológico do dente de rato capeado com Aloe vera L. liofilizado após 14 dias, (A) Aumento 4X: (a) Exposição pulpar; (B) 10X, Exposição pulpar em detalhe, (b) tecido mineralizado (C) 40X: (a) infiltrado inflamatório crônico (D) 40X, (a) tecido mineralizado em detalhe, (5 $\mu$ ) H&E.

#### 7.4.4 Resposta pulpar com Aloe vera L. após 30 dias

Trinta dias após o capeamento pulpar com Aloe vera L., os cortes histológicos mostraram área com infiltrado agudo (PMN) próxima à exposição em 70% das amostras. Por outro lado, 87% dos cortes mostraram o começo de formação de tecido mineralizada formando uma ponte entre as extremidades dentinárias da exposição. Subjacentemente, observou-se camada de odontoblastos aparentemente se organizando, infiltrado inflamatório crônico moderado, vasos hiperemiados e uma alta atividade metabólica do tecido pulpar.

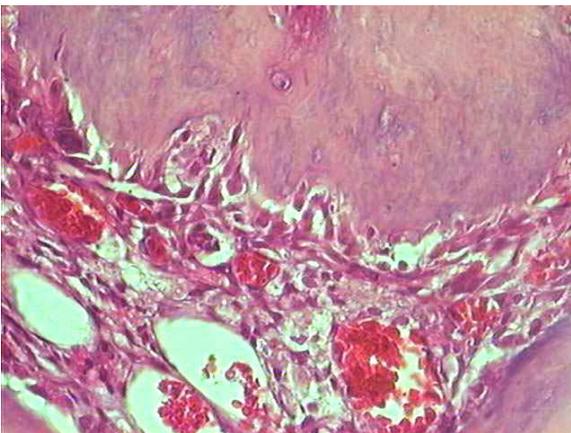
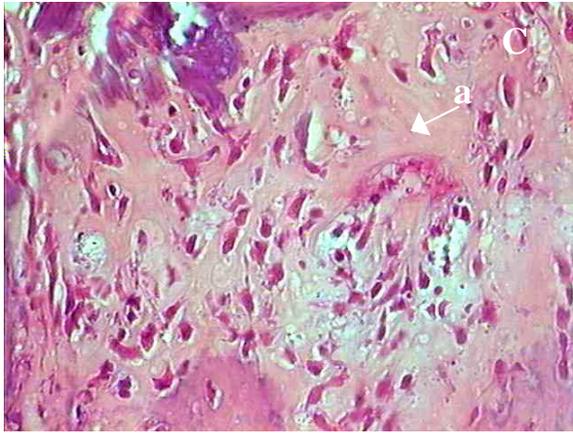
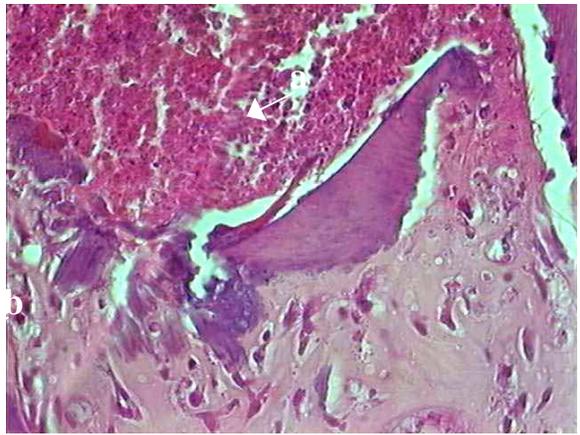
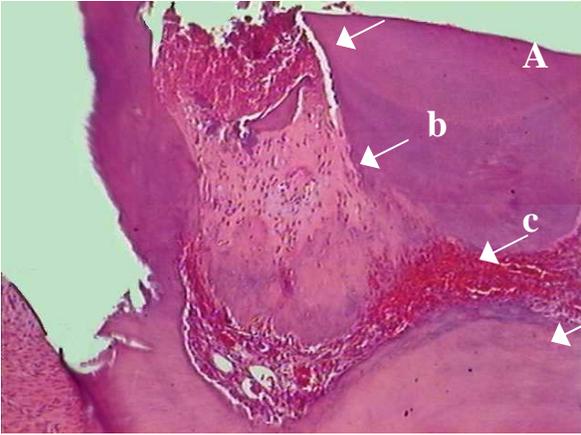
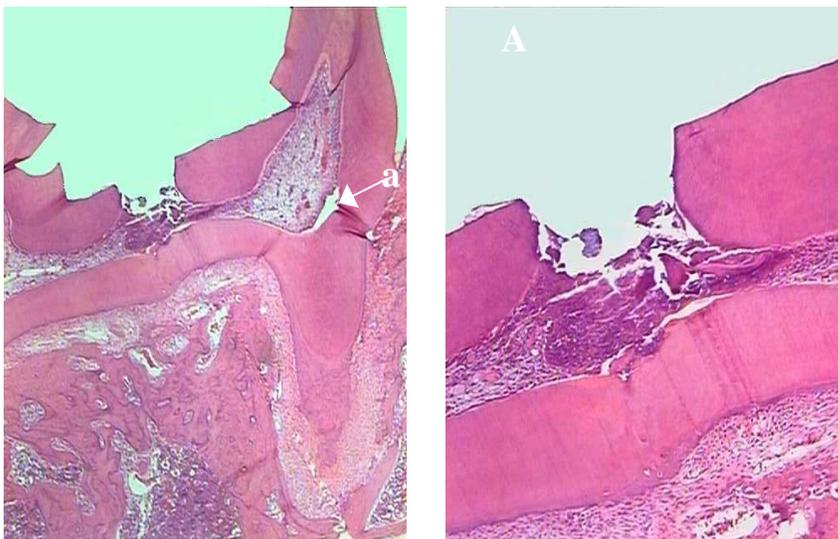


Figura 12. Corte histológico do dente de rato capeado com Aloe vera L. liofilizado após 30 dias, (A) Aumento 10X: (a) Exposição pulpar; (b) substância mineralizada (c) vasos dilatados (B) 40X, (a) Exposição pulpar, (b) tecido mineralizado (C) 40X, (a) camada mais superficial de tecido mineralizado (D) 40X, (a) camada mais profunda de tecido mineralizado, (b) reorganização da camada de odontoblastos (c) vasos hiperemiados. (5 $\mu$ ) H&E.

## 7.5 Capeamento pulpar direto com Ca(OH)<sub>2</sub> em dentes de ratos

### 7.5.1 Resposta pulpar com Ca(OH)<sub>2</sub> após 1 dia

Em 100% dos cortes histológicos notou-se, no primeiro dia após capeamento com Ca(OH)<sub>2</sub>, tecido pulpar desorganizado na área de exposição que sugere necrose. Subjacente, presença de infiltrado inflamatório agudo de PMN é evidente e os vasos apresentam-se hiperemiados.



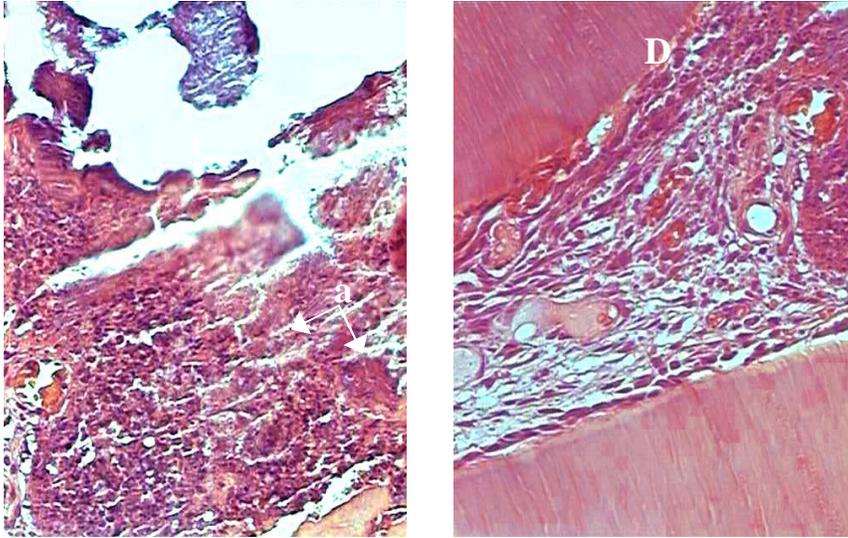


Figura 13. Corte histológico do dente de rato capeado com  $\text{Ca(OH)}_2$  após 1 dia, (A) Aumento 10X:(a) Exposição pulpar; (B) 40X, (a) Exposição pulpar em detalhe, (C) 40X, (a) necrose superficial por coagulação, (D) 40X, tecido conjuntivo frouxo. (5 $\mu$ ) H&E.

#### 7.5.2 Resposta pulpar com $\text{Ca(OH)}_2$ após 7 dias

Após 7 dias de capeamento, observou-se em 43,7% dos cortes, infiltrado crônico moderado, neutrófilos ocasionais e áreas de edema subjacente ao local de exposição, enquanto ocorreu infiltrado inflamatório agudo no local imediato à exposição com capeamento pulpar. Por outro lado, 56,3% dos cortes histológicos observados, apresentaram infiltrado inflamatório crônico moderado e necrose superficial na área da comunicação. O restante do tecido pulpar mostrou estruturas compatíveis com a normalidade.

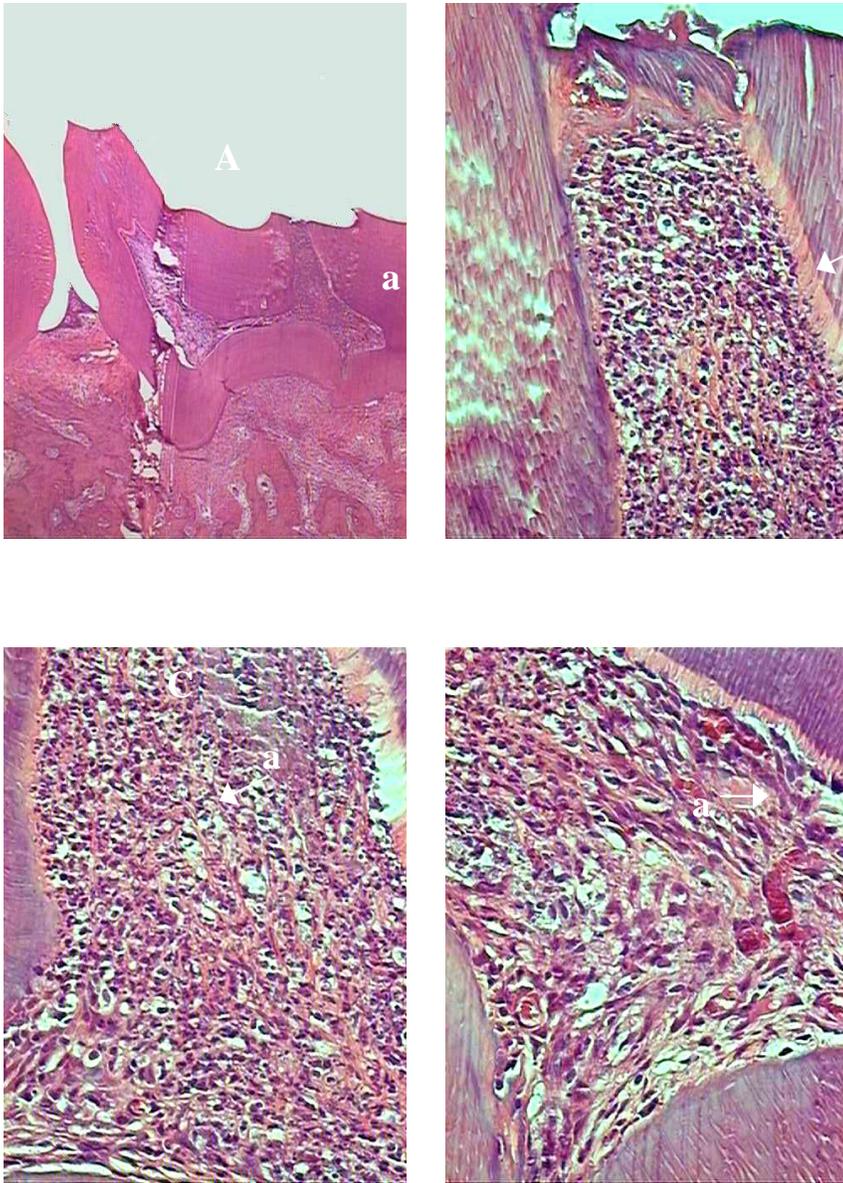


Figura 14. Corte histológico do dente de rato capeado com  $\text{Ca(OH)}_2$  após 7 dias, (A) Aumento 10X: (a) Exposição pulpar; (B) 40X, (a) infiltrado inflamatório crônico, (C) 40X: (a) infiltrado inflamatório crônico (D) 40X, (a) tecido conjuntivo frouxo (5 $\mu$ ) H&E.

### 7.5.3 Resposta pulpar com $\text{Ca(OH)}_2$ após 14 dias

No 14º dia, 100% dos cortes observados apresentaram infiltrado inflamatório crônico moderado e formação de estrutura mineralizada bloqueando a área de exposição pulpar. Subjacentemente observou-se macrófagos, vasos hiperemiados, tecido conjuntivo frouxo e reestruturação da camada de odontoblastos limitando a porção interna da estrutura mineralizada.

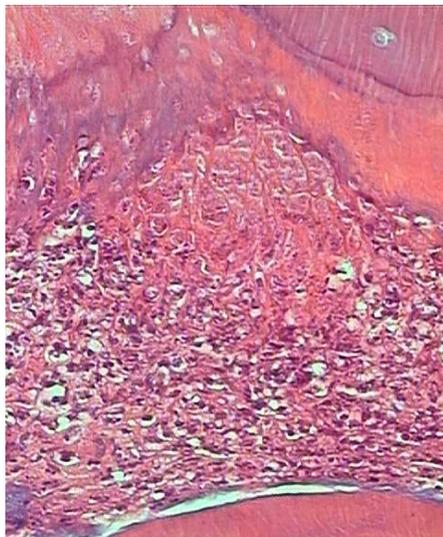
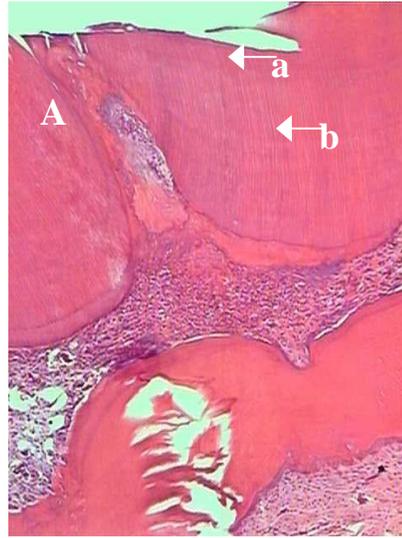
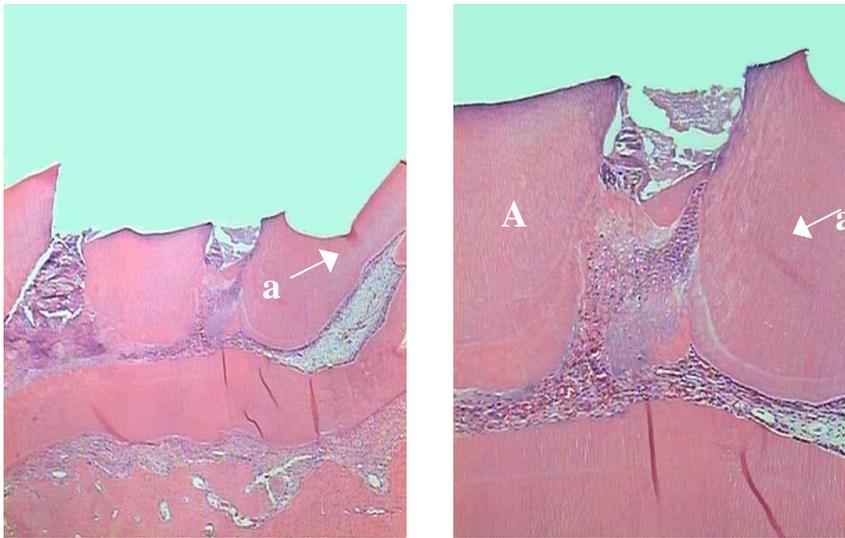


Figura 15. Corte histológico do dente de rato capeado com  $\text{Ca(OH)}_2$  após 14 dias, (A) Aumento 10X: (a) exposição pulpar; (B) 40X, (a) exposição pulpar em detalhe (b) infiltrado inflamatório crônico, (C) 40X: (a) tecido mineralizado ( $5\mu$ ) H&E.

#### 7.5.4 Resposta pulpar com $\text{Ca(OH)}_2$ após 30 dias

Após 30 dias, 100% dos cortes histológicos apresentaram ponte de tecido mineralizado mais organizada, camada de odontoblastos na face interna da ponte mineralizada, infiltrado inflamatório crônico variando de escasso a moderado e vasos hiperemiados. O tecido pulpar adjacente, bem como o restante da polpa, apresentou-se histologicamente sem alterações.



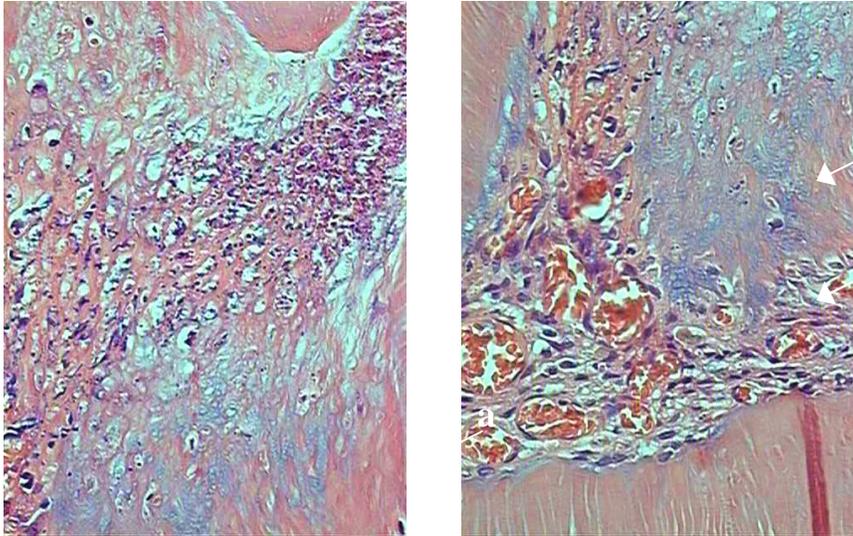


Figura 16. Corte histológico do dente de rato capeado com  $\text{Ca(OH)}_2$  após 30 dias, (A) Aumento 10X: (a) exposição pulpar; (B) 40X, (a) exposição pulpar; (b) infiltrado inflamatório crônico; (C) (a) e (b) tecido mineralizado; (D) 40X: (a) tecido mineralizado; (b) organização da camada de odontoblastos; (5 $\mu$ ) H&E.

## 7.6 Capeamento pulpar direto com o controle negativo em dentes de rato

### 7.6.1 Resposta pulpar com o controle negativo após 1 dia

Os cortes de estrutura dentária do grupo controle mostraram, no primeiro dia após a exposição pulpar, desorganização tecidual no local da exposição e, subjacentemente, observou-se vasos hiperemiados, áreas de hemorragia e escasso infiltrado de polimorfonucleares neutrófilos (PMN).

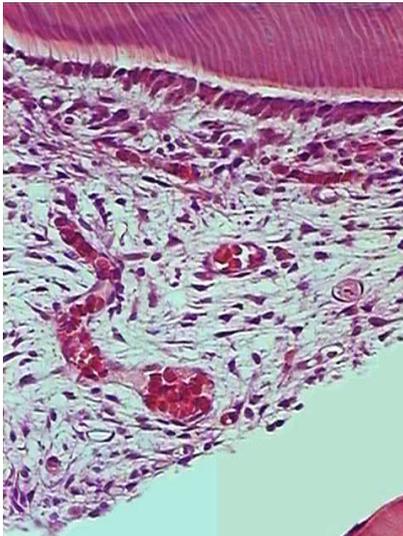
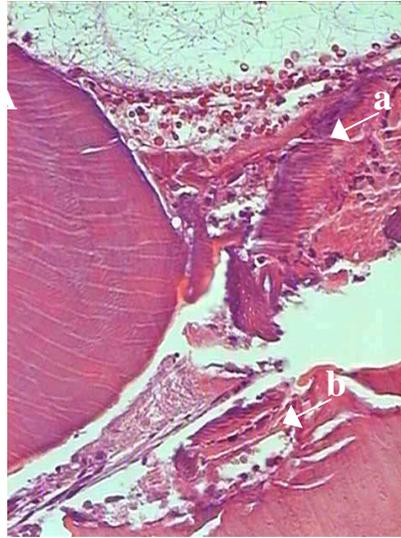
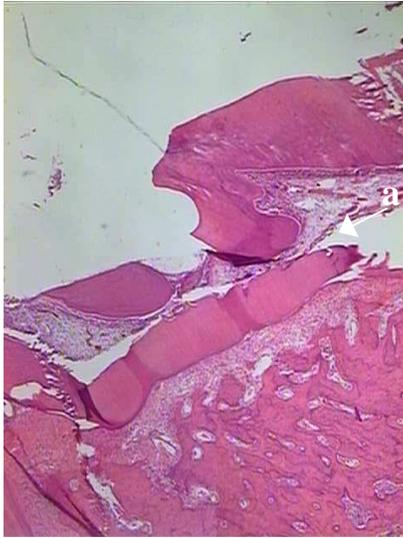


Figura 17. Corte histológico do dente de rato capeado com o controle negativo após 1 dia ,  
(A) Aumento 4X: (a) exposição pulpar; (B) 40X, (a) infiltrado inflamatório agudo; (b) zona  
de necrose, (C) 40X: (a) vasos hiperemiados. (5 $\mu$ ) H&E.

### 7.6.2 Resposta pulpar com o controle negativo após 7 dias

Aos 7 dias após capeamento com o controle negativo, observou-se tecido desorganizado, o que sugere necrose e infiltrado agudo predominantemente. Subjacentemente observa-se a presença de vasos hiperemiados, dilatados e tecido conjuntivo frouxo.

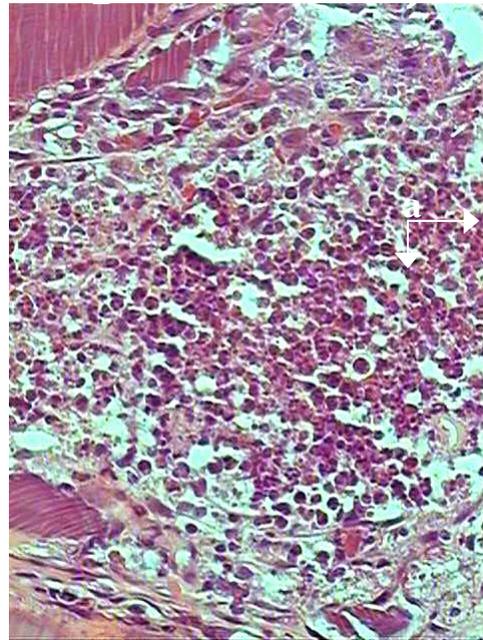
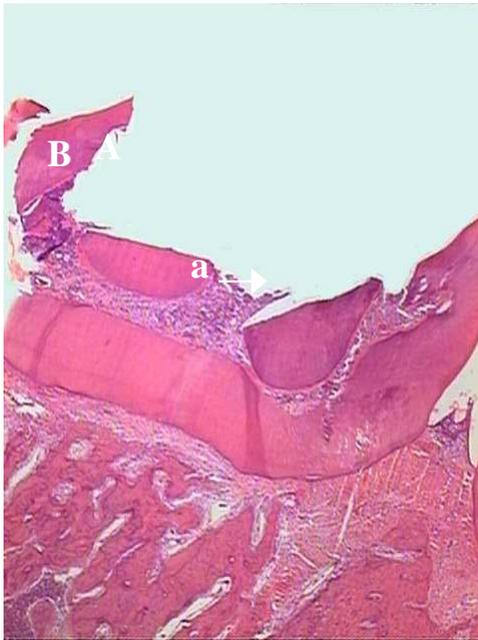


Figura 18. Corte histológico do dente de rato capeado com o controle negativo após 7 dias , (A) Aumento 4X: (a) exposição pulpar; (B) 40X, (a) infiltrado inflamatório agudo. (5 $\mu$ ) H&E.

### 7.6.3 Resposta pulpar com o controle negativo após 14 dias

No décimo quarto dia, observou-se necrose extensa do tecido, infiltrado inflamatório agudo, vasos dilatados e hiperemiados predominando na maior extensão da polpa. Infiltrado inflamatório crônico moderado foi observado subjacente à área lesada.

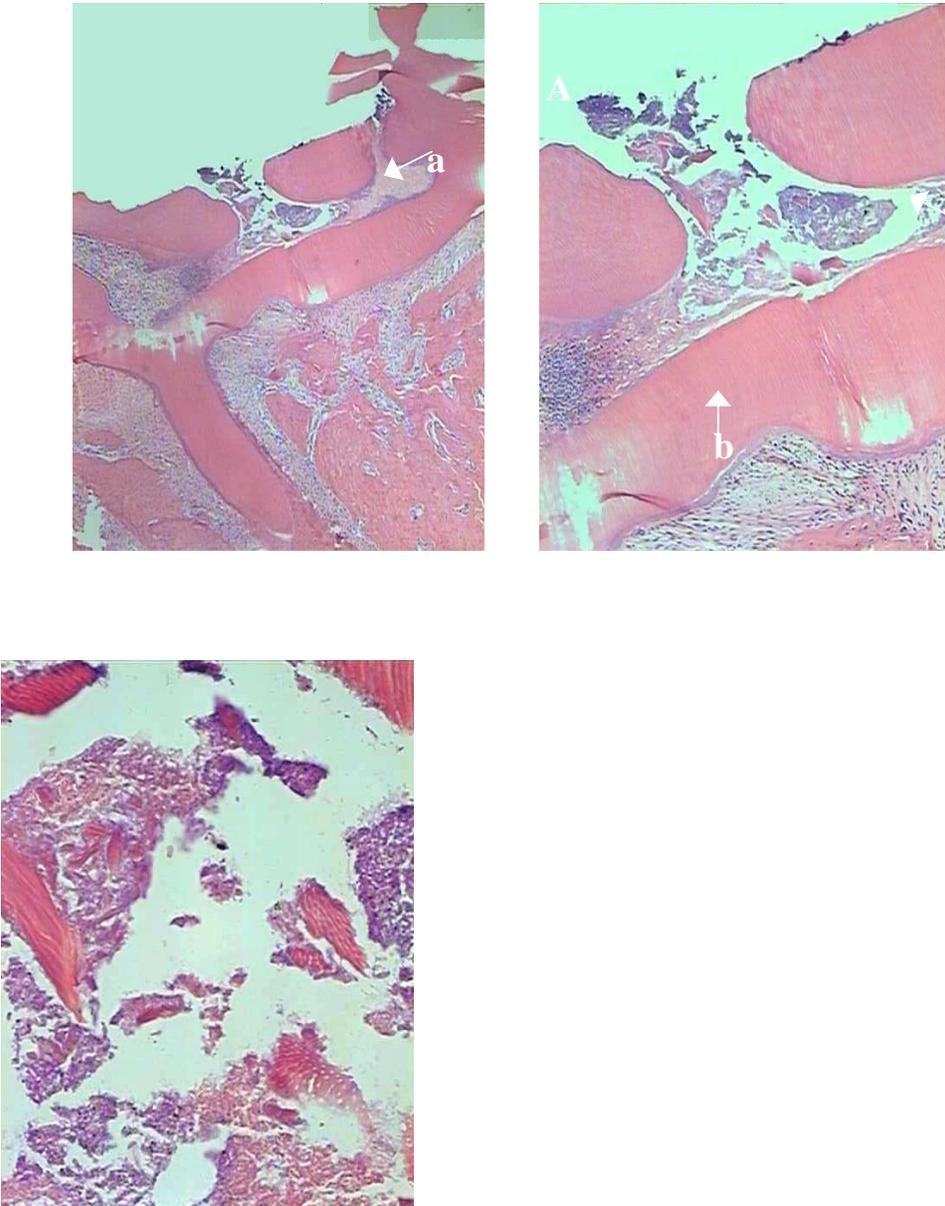


Figura 19. Corte histológico do dente de rato capeado com o controle negativo após 14 dias, (A) Aumento 4X: (a) exposição pulpar; (B) 10X, (a) zona de necrose; (b) infiltrado inflamatório agudo; (C) 40X área de necrose em detalhe (5 $\mu$ ) H&E.

### 7.6.3 Resposta pulpar com o controle negativo após 30 dias

No trigésimo dia após a exposição pulpar, o grupo controle mostrou tecido pulpar desorganizado em toda a sua extensão, sugerindo necrose total do tecido pulpar.

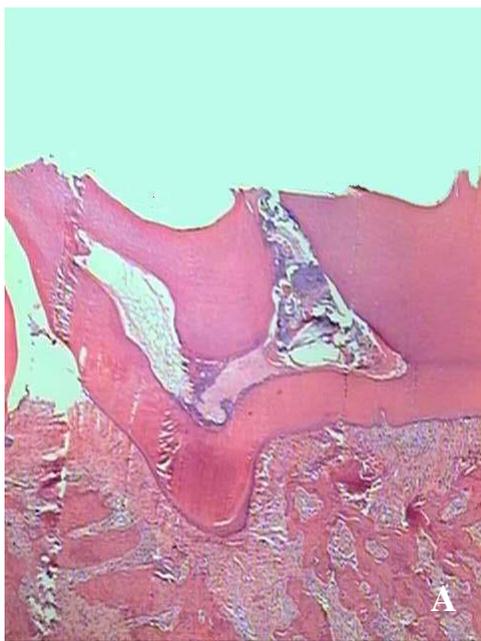


Figura 20. Corte histológico do dente de rato capeado com o controle negativo após 30 dias, (A) Aumento 10X: tecido pulpar; (B) 40X, (a) e (b) necrose total da polpa (5 $\mu$ ) H&E.

Tabela 5. Índice de concordância Kappa intraexaminador nas quatro categorias.

CATEGORIA	INDICE Kappa
Tipo de inflamação	0,729
Células predominantes	0,773
Tecido adjacente	0,793
Observação	0,934

Média do Teste de Kappa intraexaminador foi de 0,807 considerada uma concordância excelente (HUNT, 1986) e concordância perfeita (EKLUND et al., 1991).

## 7.7 Análise Estatística

Tabela 6 Distribuição das frequências percentuais na formação de ponte dentinária em relação aos materiais aplicados Aloe vera L. e Ca(OH)<sub>2</sub>

	Presença (+)	Não presença (-)
Ca(OH) <sub>2</sub>	95	5
Aloe vera L	87	13

Nível de significância  $\alpha = 0.05$

Teste Exato de Fisher

Não houve diferença significativa entre o Aloe vera L. e o Ca(OH)<sub>2</sub>.

## 8. DISCUSSÃO

A atividade de um fármaco está diretamente relacionada às suas propriedades físico-químicas, à concentração e às características da formulação, entre outros fatores. O Aloe vera L. tem sido usado durante muitos anos na cultura popular indicado empiricamente para constipação, queimaduras da pele, dores reumáticas e ferimentos. Prepara-se o sumo mucilaginoso recém tirado das folhas ou a resina obtida por dessecação do sumo, ou ainda, pedaços de folha, mas a identificação de princípios ativos que sustentem os mecanismos de ação é um grande desafio na farmacologia.

Neste estudo os métodos de preparação do Aloe vera L. tiveram por objetivo manter os princípios ativos e preservar sua atividade, assim como um produto que fosse manipulável e de fácil aplicação. Para isso foram preparadas três formas diferentes: uma líquida, outra em gel e outra liofilizada (pó). Baseados nos resultados obtidos no estudo microbiológico in vitro optou-se por utilizar exclusivamente o Aloe vera L. liofilizado, no experimento in vivo, pois esta preparação teve a melhor atividade antimicrobiana, por tanto, foi usado no capeamento pulpar direto no complexo dentino-pulpar.

A oxidação e degradação precoce são bastante comuns nos produtos naturais preferencialmente vegetais. Este fenômeno é influenciado pelos componentes minerais, temperatura o ar e a luz. A oxidação da preparação do suco de Aloe vera L. deu uma coloração lilás sugerindo a participação do iodo presente na polpa da planta o qual reage com a celulose.

O gel de Aloe vera L. 10% que usou como base hidroxipropil celulose a 2% mostrou-se viscoso, manipulável e estável. O polímero parece ter influenciado na preservação dos

princípios ativos evitando a oxidação (POLYMERS, 2003). Contudo, esta preparação teve menor atividade antimicrobiana comparada ao Aloe vera L. liofilizado. O alto peso molecular do polímero cria um enovelado que dificulta a difusão dos princípios ativos no Agar microbiológico mostrando pequenos halos de inibição. A pouca atividade In vitro não seria suficiente para excluir esta forma de preparação, pois se sabe que a reprodutibilidade desses resultados pode estar afetada por outros fatores quando aplicado in vivo no capeamento pulpar direto.

Os resultados da atividade antimicrobiana que foram apresentados nas Tabelas 3 e 4 mostraram a atividade bacteriostática. Isto é consistente com os dados encontrados por LORENZETTI et al., (1964) os quais mostraram que o *Staphylococcus aureus* foi susceptível ao suco liofilizado obtido do Aloe vera L aquecido durante 15 minutos a 80°C e pelo estudo de ROBSON et al. (1982) em extrato de Aloe vera L em concentrações de 60% frente a microorganismos tais como *Streptococcus aureus* e *Streptococcus faecalis*. Ainda, MOODY et al., (2004) usando gel de Aloe vera L. ao 100% acharam uma resistência microbiana com pequenos halos de inibição de 6,8 mm, semelhante aos resultados verificados neste estudo. Os autores afirmam que o Aloe vera L. tem atividade bacteriostática.

Nas pesquisas de MOODY et al., (2004) obtiveram medias dos halos de inibição de 18 mm para *Pseudomonas aeruginosas* e 20mm para *Staphylococcus aureus* usando extrato etanólico de Aloe vera L. Os autores confirmam a atividade antimicrobiana eficaz do Aloe vera L. nestes estudos.

A atividade antifúngica do Aloe vera L. liofilizado também se mostrou de leve para moderada. Isto está de acordo com os resultados encontrados por ROBSON et al., (1982).

Esses autores usaram extrato de Aloe vera L. em concentrações de 80% as quais foram capazes de inibir *Candida albicans*. Em estudos de MOODY et al., (2004) utilizando extrato de Aloe vera L. etanólico obtiveram 15 mm na media dos halos de inibição frente a *Candida albicans*. JASSO DE RODRÍGUEZ et al., (2005) observaram a atividade antifúngica de vários tipos de preparações e concentrações de extrato de Aloe vera L. utilizando uma fração líquida do Aloe vera L. Os autores confirmam a atividade antifúngica do Aloe vera L.

Neste estudo o material que apresentou a melhor atividade antimicrobiana foi o Aloe vera L. liofilizado (30mg) sugerindo que este método concentra e conserva os princípios ativos da planta. A liofilização imediata após liquidificação mostrou um produto mais estável, devido à sublimação da água congelada evitando assim a oxidação, preservando os princípios ativos. Outros autores também usaram a liofilização como método eficaz na conservação de produtos perecíveis e fármacos.

O modelo animal utilizado neste estudo demonstrou ser um modelo experimental adequado para avaliar este tipo de resposta no capeamento direto com diferentes materiais odontológicos. Dessa maneira possibilitou testar os materiais em poucos dentes de vários animais, minimizando o risco de se obter uma resposta atípica devido a alterações orgânicas em algum dos animais (WATTS & PATERSON 1988), também o critério de seleção de este modelo em animal obedece à hierarquia da pesquisa exigida para avaliação de novos materiais antes de serem indicados em seres humanos estabelecidos pelas normas ISO (INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION, 1984; ESTRELA, 2001).

A contenção da hemorragia pulpar causada pela exposição foi contida com irrigação e secagem com bolinhas de algodão estéreis seguindo o protocolo sugerido por GIRO et al.,

(1994). Dessa maneira, foi possível evitar a formação do coágulo espesso que também poderia prejudicar a ação do material usado para o capeamento.

Em relação aos períodos de avaliação da resposta pulpar de 1, 7, 14 e 30 dias, foram determinados com a finalidade de avaliar a resposta pulpar e ter parâmetro de comparação com outros estudos que avaliaram materiais empregados no capeamento pulpar (ALLE et al., 1984; HEYS et al., 1990; SAZAK et al., 1996). A evolução da resposta tecidual após o capeamento segue uma série de eventos desde a inflamação aguda até a resolução e, em alguns casos a formação de ponte dentinária. A literatura relata que a formação da dentina pode demorar 30 dias. Porém, os períodos de avaliação poderiam aumentar o número de perda de dentes em razão à necessidade da destreza do operador para realizar a técnica de capeamento pulpar direto no dente do rato.

Quando analisado o tipo de material restaurador, observou-se no estudo piloto que o ionômero de vidro não teve durabilidade, enquanto que o amálgama de prata foi o material mais resistente e durável. Apesar de que a literatura também sugere o amálgama como o único material restaurador que fica retido em molares de ratos (ROWE, 1967), as perdas de dentes estudados foram bastante altas devido à saída do material em razão a profundidade da cavidade e conseguir uma boa retenção mecânica no dente do rato.

Neste estudo foram excluídos os dentes que apresentaram o amálgama fraturado e/ou contaminação visível. A importância da preservação do selamento na restauração foi verificada neste estudo e confirmada na pesquisa de PEREIRA et al., (1980). Esses autores verificaram que, após o capeamento pulpar direto e selamento com amálgama, houve formação de barreiras irregulares e incompletas e degeneração do tecido pulpar. Os autores atribuíram esses resultados, provavelmente, à infiltração marginal, durante as primeiras horas após a restauração.

Para o controle positivo, foi usado o  $\text{Ca(OH)}_2$  P.A. em água destilada como sugerido nos trabalhos de HOLLAND et al. (1978), HOLLAND et al. (1980) e PEREIRA et al. (1980). Quando utilizada a pasta de  $\text{Ca(OH)}_2$  P.A. misturado com água houve maior de sucesso (90 – 95%) quando comparada a outras formas de aplicação, corroborado com os resultados de nosso estudo (95%).

Em relação à resposta após capeamento Aloe vera L. no primeiro dia 100% dos casos apresentaram infiltrado inflamatório agudo (PMN) moderado na área da exposição. Subjacente ao infiltrado agudo, observou-se tecido conjuntivo frouxo com vasos hiperemiados, edema e hemorragia. O restante do tecido pulpar não mostrou alterações evidentes. Entretanto, no grupo do  $\text{Ca(OH)}_2$  o processo inflamatório apresentou notável presença de um infiltrado inflamatório agudo severo (HOLLAND et al., 1982; TZIAFAS, 1995; ESTRELA & PESCE, 1996. ESTRELA & HOLLAND, 2004).

A formação inicial de necrose superficial por coagulação no grupo do  $\text{Ca(OH)}_2$  esteve presente em todos os casos de forma mais severa comparado ao grupo do Aloe vera L. Esses resultados estão de acordo com os apresentados na revisão da literatura em relação ao  $\text{Ca(OH)}_2$ . Assim, sugere-se que a composição do Aloe vera L. e um pH mais fisiológico (6,8) foram mais bem tolerados pelos tecidos do complexo dentino-pulpar mostrando-a biocompatível.

A aplicação do Aloe vera L. poderia significar a diminuição dos sinais clínicos pós-operatórios do capeamento pulpar no primeiro dia em humanos. Isto era esperado, pois a reação inflamatória inicial do hospedeiro é uma resposta normal à lesão e presença de

objetos estranhos. No entanto, a resolução do processo poderá ser resolvida em aproximadamente 15 dias. A magnitude e duração do processo inflamatório, por sua vez, têm conseqüências diretas na estabilidade e biocompatibilidade do material (KAO & LEE, 2001).

No sétimo dia observou-se, em 100% dos cortes analisados, o início da resolução do processo inflamatório nos grupos do Aloe vera L. e  $\text{Ca(OH)}_2$ . A presença do infiltrado inflamatório crônico moderado com mínimas áreas de necrose, de tamanho variável e vasos hiperemiados, foram semelhantes aos resultados apresentados por SCHÖDER & SUNDSTRON (1974) e ISAIA & CATANZARO-GUIMARÃES (1975). Neste período, observaram-se zonas de reparação formadas por fibroblastos e fibras colágenas. Entretanto no grupo controle negativo, observou-se tecido desorganizado característico da degeneração tecidual com necrose e infiltrado agudo predominantemente.

Quatorze dias após o capeamento pulpar com Aloe vera L, os cortes histológicos mostraram uma área com infiltrado inflamatório moderado de PMN, próxima à exposição, em 70% das amostras. Por outro lado, 87% dos cortes mostraram o começo de formação de substância mineralizada formando uma ponte entre as extremidades dentinárias da exposição. Esta porcentagem de sucesso pode ser considerada uma resposta excelente quando comparada com os resultados apresentados por outros autores. PITT FORD (1980) encontrou que o Dycal® formou ponte dentinária em 87,5% dos casos (n=8) comparado ao MPC o qual causou inflamação e/ou necrose pulpar.

Segundo ALLE et al., (1984), quando analisada a resposta pulpar após 14 dias há uma intensa proliferação de fibroblastos com a tendência de isolar a área de exposição com começo de formação de sustância mineralizada. Entretanto, no grupo do controle negativo,

observou-se necrose extensa do tecido, presença de infiltrado inflamatório agudo, vasos hiperemiados, predominando em toda a polpa e infiltrado inflamatório crônico moderado foi observado subjacente à área lesada. Neste período, não houve diferença entre os grupos capeados com Aloe vera L. e o  $\text{Ca(OH)}_2$ . De forma geral, há uma organização da camada de odontoblastos e formação de substância mineralizada, infiltrado inflamatório crônico moderado, vasos dilatados e hemorragia com uma alta atividade metabólica. Em contraposição, no grupo controle negativo o tecido subjacente teve indícios de degeneração tecidual parcial do tecido pulpar, inflamação e necrose.

Dessa maneira, considerando os fatores analisados no dia quatorze, será evidente que o Aloe vera L. tem papel na ativação dos macrófagos e sua capacidade fagocitária e conseqüentemente na resolução da inflamação neste período crítico. Além disso, o Aloe vera L. mostra-se um material bioativo, pois estimula os odontoblastos para a deposição de material mineral. A ação antiinflamatória pode ser devido à presença de salicilatos na composição da planta (KLEIN, et al., 1988; DZINK et al., 1988) explicando a menor inflamação no primeiro dia no grupo do Aloe vera L., sendo assim vantajoso para a reparação tecidual. A neoformação de vasos pode ser atribuída às propriedades do acemannan como afirmam DJERABA & QUERE (2000) e LEE et al., (2001).

Após 30 dias a ponte dentinária formada nos dentes tratados com Aloe vera L. e  $\text{Ca(OH)}_2$  começa a ter uma aparência mais organizada e mais uniforme. Esses dados reforçam os resultados obtidos por outros autores em relação ao uso de  $\text{Ca(OH)}_2$  onde é considerado que após 30 dias a ponte dentinária começa a ficar mais parecida com um tecido osteóide (ALLE et al., 1984). Ainda outros autores relataram a presença de tecido mineralizado e organização diferente dos odontoblastos após 30 dias (HOLLAND et al.,

1982; TZIAFAS, 1995; ESTRELA & PESCE, 1996 e ESTRELA & HOLLAND 2004). Contudo, o grupo controle negativo mostrou tecido pulpar desorganizado em toda a sua extensão, sugerindo necrose parcial ou total do tecido pulpar, em 100% dos casos.

Mediante os resultados obtidos no presente estudo consideramos que o Aloe vera L deve ser utilizado na forma de pó liofilizado para evitar a oxidação e a perda dos princípios ativos nele contidos. Dessa maneira este contribui para seu uso sustentável e fornece subsídios para o emprego racional desta planta na fitoterapia. Temos que considerar também que os princípios ativos extraídos a partir de produtos naturais precisam de uma tecnologia relativamente simples, é de fácil aquisição que diminui os custos, representando assim mais uma vantagem se comparamos com outros materiais alternativos ao  $\text{Ca(OH)}_2$  no capeamento pulpar.

Pelos fatos expostos podemos afirmar que, mediante a metodologia adotada neste trabalho, o Aloe vera L tem capacidade regeneradora de tecidos em razão a sua excelente resposta biológica demonstrada no estudo, in vivo. Esta característica é requisito essencial para futuros materiais a serem usados no capeamento pulpar. Sendo assim a motivação de realizar outras pesquisas semelhantes partindo deste trabalho, tornando-se um desafio para os pesquisadores tendo a responsabilidade de complementar e enriquecer ainda mais esta linha de pesquisa.

## 8. DISCUSSÃO

A atividade de um fármaco está diretamente relacionada às suas propriedades físico-químicas, à concentração e às características da formulação, entre outros fatores. O Aloe vera L. tem sido usado durante muitos anos na cultura popular indicado empiricamente para

constipação, queimaduras da pele, dores reumáticas e ferimentos. Prepara-se o sumo mucilaginoso recém tirado das folhas ou a resina obtida por dessecação do sumo, ou ainda, pedaços de folha, mas a identificação de princípios ativos que sustentem os mecanismos de ação é um grande desafio na farmacologia.

Neste estudo os métodos de preparação do Aloe vera L. tiveram por objetivo manter os princípios ativos e preservar sua atividade, assim como um produto que fosse manipulável e de fácil aplicação. Para isso foram preparadas três formas diferentes: uma líquida, outra em gel e outra liofilizada (pó). Baseados nos resultados obtidos no estudo microbiológico in vitro optou-se por utilizar exclusivamente o Aloe vera L. liofilizado, no experimento in vivo, pois esta preparação teve a melhor atividade antimicrobiana, por tanto, foi usado no capeamento pulpar direto no complexo dentino-pulpar.

A oxidação e degradação precoce são bastante comuns nos produtos naturais preferencialmente vegetais. Este fenômeno é influenciado pelos componentes minerais, temperatura o ar e a luz. A oxidação da preparação do suco de Aloe vera L. deu uma coloração lilás sugerindo a participação do iodo presente na polpa da planta o qual reage com a celulose.

O gel de Aloe vera L. 10% que usou como base hidroxipropil celulose a 2% mostrou-se viscoso, manipulável e estável. O polímero parece ter influenciado na preservação dos princípios ativos evitando a oxidação (POLYMERS, 2003). Contudo, esta preparação teve menor atividade antimicrobiana comparada ao Aloe vera L. liofilizado. O alto peso molecular do polímero cria um enovelado que dificulta a difusão dos princípios ativos no Agar microbiológico mostrando pequenos halos de inibição. A pouca atividade In vitro não

seria suficiente para excluir esta forma de preparação, pois se sabe que a reprodutibilidade desses resultados pode estar afetada por outros fatores quando aplicado in vivo no capeamento pulpar direto.

Os resultados da atividade antimicrobiana que foram apresentados nas Tabelas 3 e 4 mostraram a atividade bacteriostática. Isto é consistente com os dados encontrados por LORENZETTI et al., (1964) os quais mostraram que o *Staphylococcus aureus* foi susceptível ao suco liofilizado obtido do Aloe vera L aquecido durante 15 minutos a 80°C e pelo estudo de ROBSON et al. (1982) em extrato de Aloe vera L em concentrações de 60% frente a microorganismos tais como *Streptococcus aureus* e *Streptococcus faecalis*. Ainda, MOODY et al., (2004) usando gel de Aloe vera L. ao 100% acharam uma resistência microbiana com pequenos halos de inibição de 6,8 mm, semelhante aos resultados verificados neste estudo. Os autores afirmam que o Aloe vera L. tem atividade bacteriostática.

Nas pesquisas de MOODY et al., (2004) obtiveram medias dos halos de inibição de 18 mm para *Pseudomonas aeruginosas* e 20mm para *Staphylococcus aureus* usando extrato etanólico de Aloe vera L. Os autores confirmam a atividade antimicrobiana eficaz do Aloe vera L. nestes estudos.

A atividade antifúngica do Aloe vera L. liofilizado também se mostrou de leve para moderada. Isto está de acordo com os resultados encontrados por ROBSON et al., (1982). Esses autores usaram extrato de Aloe vera L. em concentrações de 80% as quais foram capazes de inibir *Candida albicans*. Em estudos de MOODY et al., (2004) utilizando extrato de Aloe vera L. etanólico obtiveram 15 mm na media dos halos de inibição frente a *Candida albicans*. JASSO DE RODRÍGUEZ et al., (2005) observaram a atividade

antifúngica de vários tipos de preparações e concentrações de extrato de Aloe vera L utilizando uma fração líquida do Aloe vera L. Os autores confirmam a atividade antifúngica do Aloe vera L.

Neste estudo o material que apresentou a melhor atividade antimicrobiana foi o Aloe vera L. liofilizado (30mg) sugerindo que este método concentra e conserva os princípios ativos da planta. A liofilização imediata após liquidificação mostrou um produto mais estável, devido à sublimação da água congelada evitando assim a oxidação, preservando os princípios ativos. Outros autores também usaram a liofilização como método eficaz na conservação de produtos perecíveis e fármacos.

O modelo animal utilizado neste estudo demonstrou ser um modelo experimental adequado para avaliar este tipo de resposta no capeamento direto com diferentes materiais odontológicos. Dessa maneira possibilitou testar os materiais em poucos dentes de vários animais, minimizando o risco de se obter uma resposta atípica devido a alterações orgânicas em algum dos animais (WATTS & PATERSON 1988), também o critério de seleção de este modelo em animal obedece à hierarquia da pesquisa exigida para avaliação de novos materiais antes de serem indicados em seres humanos estabelecidos pelas normas ISO (INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION, 1984; ESTRELA, 2001).

A contenção da hemorragia pulpar causada pela exposição foi contida com irrigação e secagem com bolinhas de algodão estéreis seguindo o protocolo sugerido por GIRO et al., (1994). Dessa maneira, foi possível evitar a formação do coágulo espesso que também poderia prejudicar a ação do material usado para o capeamento.

Em relação aos períodos de avaliação da resposta pulpar de 1, 7, 14 e 30 dias, foram determinados com a finalidade de avaliar a resposta pulpar e ter parâmetro de comparação

com outros estudos que avaliaram materiais empregados no capeamento pulpar (ALLE et al., 1984; HEYS et al., 1990; SAZAK et al., 1996). A evolução da resposta tecidual após o capeamento segue uma série de eventos desde a inflamação aguda até a resolução e, em alguns casos a formação de ponte dentinária. A literatura relata que a formação da dentina pode demorar 30 dias. Porém, os períodos de avaliação poderiam aumentar o número de perda de dentes em razão à necessidade da destreza do operador para realizar a técnica de capeamento pulpar direto no dente do rato.

Quando analisado o tipo de material restaurador, observou-se no estudo piloto que o ionômero de vidro não teve durabilidade, enquanto que o amálgama de prata foi o material mais resistente e durável. Apesar de que a literatura também sugere o amálgama como o único material restaurador que fica retido em molares de ratos (ROWE, 1967), as perdas de dentes estudados foram bastante altas devido à saída do material em razão a profundidade da cavidade e conseguir uma boa retenção mecânica no dente do rato.

Neste estudo foram excluídos os dentes que apresentaram o amálgama fraturado e/ou contaminação visível. A importância da preservação do selamento na restauração foi verificada neste estudo e confirmada na pesquisa de PEREIRA et al., (1980). Esses autores verificaram que, após o capeamento pulpar direto e selamento com amálgama, houve formação de barreiras irregulares e incompletas e degeneração do tecido pulpar. Os autores atribuíram esses resultados, provavelmente, à infiltração marginal, durante as primeiras horas após a restauração.

Para o controle positivo, foi usado o  $\text{Ca(OH)}_2$  P.A. em água destilada como sugerido nos trabalhos de HOLLAND et al. (1978), HOLLAND et al. (1980) e PEREIRA et al. (1980). Quando utilizada a pasta de  $\text{Ca(OH)}_2$  P.A. misturado com água houve maior de

sucesso (90 – 95%) quando comparada a outras formas de aplicação, corroborado com os resultados de nosso estudo (95%).

Em relação à resposta após capeamento Aloe vera L. no primeiro dia 100% dos casos apresentaram infiltrado inflamatório agudo (PMN) moderado na área da exposição. Subjacente ao infiltrado agudo, observou-se tecido conjuntivo frouxo com vasos hiperemiados, edema e hemorragia. O restante do tecido pulpar não mostrou alterações evidentes. Entretanto, no grupo do  $\text{Ca(OH)}_2$  o processo inflamatório apresentou notável presença de um infiltrado inflamatório agudo severo (HOLLAND et al., 1982; TZIAFAS, 1995; ESTRELA & PESCE, 1996. ESTRELA & HOLLAND, 2004).

A formação inicial de necrose superficial por coagulação no grupo do  $\text{Ca(OH)}_2$  esteve presente em todos os casos de forma mais severa comparado ao grupo do Aloe vera L. Esses resultados estão de acordo com os apresentados na revisão da literatura em relação ao  $\text{Ca(OH)}_2$ . Assim, sugere-se que a composição do Aloe vera L. e um pH mais fisiológico (6,8) foram mais bem tolerados pelos tecidos do complexo dentino-pulpar mostrando-a biocompatível.

A aplicação do Aloe vera L. poderia significar a diminuição dos sinais clínicos pós-operatórios do capeamento pulpar no primeiro dia em humanos. Isto era esperado, pois a reação inflamatória inicial do hospedeiro é uma resposta normal à lesão e presença de objetos estranhos. No entanto, a resolução do processo poderá ser resolvida em aproximadamente 15 dias. A magnitude e duração do processo inflamatório, por sua vez, têm conseqüências diretas na estabilidade e biocompatibilidade do material (KAO & LEE, 2001).

No sétimo dia observou-se, em 100% dos cortes analisados, o início da resolução do processo inflamatório nos grupos do Aloe vera L. e Ca(OH)<sub>2</sub>. A presença do infiltrado inflamatório crônico moderado com mínimas áreas de necrose, de tamanho variável e vasos hiperemiados, foram semelhantes aos resultados apresentados por SCHÖDER & SUNDSTRON (1974) e ISAIA & CATANZARO-GUIMARÃES (1975). Neste período, observaram-se zonas de reparação formadas por fibroblastos e fibras colágenas. Entretanto no grupo controle negativo, observou-se tecido desorganizado característico da degeneração tecidual com necrose e infiltrado agudo predominantemente.

Quatorze dias após o capeamento pulpar com Aloe vera L, os cortes histológicos mostraram uma área com infiltrado inflamatório moderado de PMN, próxima à exposição, em 70% das amostras. Por outro lado, 87% dos cortes mostraram o começo de formação de substância mineralizada formando uma ponte entre as extremidades dentinárias da exposição. Esta porcentagem de sucesso pode ser considerada uma resposta excelente quando comparada com os resultados apresentados por outros autores. PITT FORD (1980) encontrou que o Dycal® formou ponte dentinária em 87,5% dos casos (n=8) comparado ao MPC o qual causou inflamação e/ou necrose pulpar.

Segundo ALLE et al., (1984), quando analisada a resposta pulpar após 14 dias há uma intensa proliferação de fibroblastos com a tendência de isolar a área de exposição com começo de formação de substância mineralizada. Entretanto, no grupo do controle negativo, observou-se necrose extensa do tecido, presença de infiltrado inflamatório agudo, vasos hiperemiados, predominando em toda a polpa e infiltrado inflamatório crônico moderado foi observado subjacente à área lesada. Neste período, não houve diferença entre os grupos capeados com Aloe vera L. e o Ca(OH)<sub>2</sub>. De forma geral, há uma organização da camada de odontoblastos e formação de substância mineralizada, infiltrado inflamatório crônico

moderado, vasos dilatados e hemorragia com uma alta atividade metabólica. Em contraposição, no grupo controle negativo o tecido subjacente teve indícios de degeneração tecidual parcial do tecido pulpar, inflamação e necrose.

Dessa maneira, considerando os fatores analisados no dia quatorze, será evidente que o Aloe vera L. tem papel na ativação dos macrófagos e sua capacidade fagocitária e conseqüentemente na resolução da inflamação neste período crítico. Além disso, o Aloe vera L. mostra-se um material bioativo, pois estimula os odontoblastos para a deposição de material mineral. A ação antiinflamatória pode ser devido à presença de salicilatos na composição da planta (KLEIN, et al., 1988; DZINK et al., 1988) explicando a menor inflamação no primeiro dia no grupo do Aloe vera L., sendo assim vantajoso para a reparação tecidual. A neoformação de vasos pode ser atribuída às propriedades do acemannan como afirmam DJERABA & QUERE (2000) e LEE et al., (2001).

Após 30 dias a ponte dentinária formada nos dentes tratados com Aloe vera L. e  $\text{Ca(OH)}_2$  começa a ter uma aparência mais organizada e mais uniforme. Esses dados reforçam os resultados obtidos por outros autores em relação ao uso de  $\text{Ca(OH)}_2$  onde é considerado que após 30 dias a ponte dentinária começa a ficar mais parecida com um tecido osteóide (ALLE et al., 1984). Ainda outros autores relataram a presença de tecido mineralizado e organização diferente dos odontoblastos após 30 dias (HOLLAND et al., 1982; TZIAFAS, 1995; ESTRELA & PESCE, 1996 e ESTRELA & HOLLAND 2004). Contudo, o grupo controle negativo mostrou tecido pulpar desorganizado em toda a sua extensão, sugerindo necrose parcial ou total do tecido pulpar, em 100% dos casos.

Mediante os resultados obtidos no presente estudo consideramos que o Aloe vera L. deve ser utilizado na forma de pó liofilizado para evitar a oxidação e a perda dos princípios

ativos nele contidos. Dessa maneira este contribui para seu uso sustentável e fornece subsídios para o emprego racional desta planta na fitoterapia. Temos que considerar também que os princípios ativos extraídos a partir de produtos naturais precisam de uma tecnologia relativamente simples, é de fácil aquisição que diminui os custos, representando assim mais uma vantagem se comparamos com outros materiais alternativos ao  $\text{Ca(OH)}_2$  no capeamento pulpar.

Pelos fatos expostos podemos afirmar que, mediante a metodologia adotada neste trabalho, o Aloe vera L tem capacidade regeneradora de tecidos em razão a sua excelente resposta biológica demonstrada no estudo, in vivo. Esta característica é requisito essencial para futuros materiais a serem usados no capeamento pulpar. Sendo assim a motivação de realizar outras pesquisas semelhantes partindo deste trabalho, tornando-se um desafio para os pesquisadores tendo a responsabilidade de complementar e enriquecer ainda mais esta linha de pesquisa.

## 9. CONCLUSÕES.

A partir do exposto pode se concluir que:

1. A preparação mais estável de Aloe vera L. foi aquela preparada pelo método de liofilização.
2. O Aloe vera L. liofilizado apresenta-se como agente bacteriostático e antifúngico.

3. O gel de Aloe vera L. a 10% misturado com hidroxietilcelulose ao 2% apresenta-se como agente antimicrobiano e antifúngico de menor ação que o Aloe vera L. liofilizado e o sumo puro de Aloe vera L. não apresenta nenhuma ação antimicrobiana.
4. O infiltrado inflamatório agudo do grupo capeado com Aloe vera L. apresentou infiltrado inflamatório agudo leve a moderado.
5. A formação de tecido mineralizado no grupo Aloe vera L. teve início a partir do décimo quarto dia.
6. O tecido mineralizado tornou-se mais evidente no trigésimo dia assim como a reorganização dos odontoblastos.
7. A ausência de necrose no grupo capeado com Aloe vera L. liofilizado, sugere biocompatibilidade dele como os tecidos dentários.
8. O presente trabalho representa uma contribuição inovadora na pesquisa odontológica.

## 10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABEDI, H. R.; INGLE, J. I. Mineral trioxide aggregate: a review of a new cement. J. Calif. Dent. Assoc. Sacramento, v. 23, n. 12, p. 36-39, Dec. 1995.
2. AEINEHCHI, M. et al. Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium hydroxide as pulp capping agents in human teeth: a preliminary report. Int. Endod. J., Baltimore, v.36, n.3, p.225-231. Mar 2003.

3. ALLE, N.; COSTA, N. O.; PEREIRA, J. C. Efeito de alguns materiais a base de hidróxido de cálcio em proteção direta de polpa de cães. *Estomatolog. Cult.*, v.14, n.1/2, p.21-28. 1984.
4. ALLIOT-LICHT, B.; JEAN, A.; GREGOIRE, M. Comparative effects of calcium hydroxide and hydroxyapatite on the cellular activity of human pulp fibroblasts in vitro. *Archs. Oral Biol.* v.39, n.6, p.481-489, Jan. 1994.
5. AMERICAN ASSOCIATION OF ENDODONTICS. An annotated glossary of terms used in endodontics. *J. Endod.*, Baltimore, v. 7, n. 18. 1981.
6. ANUSAVICE, K. J. J. Management of dental caries as a chronic infections disease. *J Dent Educ.*, Washington v.62, n.10, p.791-801. 1998.
7. ATHERTON, P. The essencial Aloe vera: the actions and the evidence, 2. ed.Oxford: newly-published, U.S.A. 1997, 97 p.
8. BARTOLOTTA, A. et al. Effects of gamma-irradiation on trehalose-hydroxyethylcellulose microspheres loaded with vancomycin. *Eur J Pharm Biopharm*, Amsterdam v.59, n. 1, p.139-146. Jan. 2005.
9. BERNABÉ, P. F. E.; HOLLAND, R. MTA e cimento Portland, considerações sobre as propriedades físicas, químicas e biológicas. In: *Odontologia Arte e Conhecimento*. São Paulo: Artes Médicas Ltda, v.1, cap.11, p. 225-264, 2003.
10. BHASKAR, S.L. et al. Biodegradable ceramic implant in bone: electron and lighth microscopy analysis *Oral Surg Oral d Oral Pathol.*;v. 32, n. 2, p. 336-346. Aug. 1971
11. BLITZ, J., SMITH, J., GERARD J. Aloe vera gel in peptic ulcers therapy: preliminary report. *J. Am Osteopath. Assoc.* Chicago, v. 62, n. 1, p.731-735, Apr. 1963.

12. BURKE, J. H. Reversal of external root resorption. *J. Endod.*, Baltimore, v.2, n.3, p.87-88. Jan. 1976.
13. BUTLER, W. T. Dentin extracellular matrix and dentinogenesis. *Oper. Dent.*, Seattle, v. 5, p.18-23. 1992.
14. CARLINE J, Simpósio de Plantas Medicinales del Brasil (Resumen), São Paulo, s/e, 78 f. 1989.
15. COSTA, C. A. S.; HEBLING, J.; HANKS, C. T. Current status of pulp capping with dentin adhesive system: a review. *Dent. Mater.*, Oxford v.16, n. 3, p. 188-197. 2000.
16. COSTA, M. A., et al. *Plantas & Saúde: guia introdutório à fitoterapia*. Brasília: Governo do Distrito Federal, 1992.
17. COX, C. F.; SUZUKI, S. Re-evaluating pulp protection: calcium hydroxide liners vs. cohesive hybridization. *J. Am. Dent. Assoc.*, Chicago, v.125, n.7, p.823-831. 1994.
18. CUESTA, A., et al. In vivo effects of propolis, a honeybee product, on gilthead seabream innate immune responses. *Fish & Shellfish Immunol.* Aberdeen, v.18, n. 1, p.71-80, jan. 2005.
19. CVEK, M. A. Clinical report on partial pulpotomy and capping with calcium hydroxide in permanent incisors with complicated crown fractured. *J. Endod.*, Baltimore, v.4, n. 8, p.232-237. Jan 1978.
20. DE DEUS, Q. D. *Endodontia*, 5 ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1992.695p.
21. DJERABA, A., QUERE, P. in vivo macrophage activation in chickens with acemannan, a complex carbohydrate extracted from Aloe vera. *Int. J. Immunopharmaol.*, Oxford, v.22, n.5, p.365-372. May 2000.

22. DZINK, J. L.; SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, Copenhagen, v.15, n. 5, p. 316-323. May.1988.
23. EKLUD, S. A. et al. Calibration for oral health epidemiological surveys. Geneva:World Health Organization, 1991, p.16.
24. ESTRELA, C.; PESCE, H. F. Chemical analysis of the liberation of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide pastes in connective tissue of the dog. Part I. *Braz. Dent. J.*, Riberão Preto, v.7, n. 1, p. 41-46. 1996.
25. ESTRELA, C. et al. Dentinal diffusion of hydroxyl ions of various of various 7-calcium hydroxide paste. *Braz. Dent. J.*, Riberão Preto, v.6, n.1, p.5-9. 1995a.
26. ESTRELA, C. et al. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz. Dent. J. Riberão Preto*, v.6, n.2, p.85-90. 1995b.
27. ESTRELA, C. Metodologia científica: ensino e pesquisa em odontologia. São Paulo: Artes Médicas, 2001. 483p.
28. ESTRELA, C.; HOLLAND, R. Tratamento da polpa dentária inflamada. In: *Ciência Endodôntica*. Artes Médicas: São Paulo, v.1, cap.4, p.87-147. 2004.
29. FARACO Jr., I. M., HOLLAND, R. Response of the pulps of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. *Dent Traumatol.*, Chapel Hill, v.17, n.4, p.63-66. 2001.
30. FERNÁNDEZ, S. et al. Sedative and sleep-enhancing properties of linarin, a flavonoid-isolated from valeriana officinalis. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, La Jolla, v.77, n. 2, p.399-404, Fev. 2004.

31. FITZGERALD, M., CHIEGO JR., D. J., HEYS, D. R. Autoradiographic analysis of odontoblast replacement following pulp exposure in primate teeth. Arch. Oral Biol., Oxford, v.35, n.9, p. 707-715. Jan.1990.
32. FOSTER, K. H., KULILD, J.C., WELLER, R. N. Effect of smear layer removal on the diffusion of calcium hydroxide through radicular dentin. J. Endod., Baltimore, v.19, n.3, p. 136-140, Mar. 1993.
33. FUJITA, K., TERADAIDA, R., NAGATSU, T. Bradikinas activity of Aloe vera extract. Biochem Pharmacol.. Kansas City,. v. 25, n. 2, p. 205. Jun. 1976.
34. FURONES J. A.; MORON F.; PINEDO Z.; Acción analgésica de un extracto acuoso liofilizado de Aloe vera en ratones. Rev Cubana Plant Med., La Habana, v.1, n. 2, p.15-17, mar-ago. 1996.
35. FURUSAWA, M.; NAKAGAWA, K. I.; YASUHIRO, A. Clinico-pathological studies on the tissue reactions of human pulp treated with various kinds of calcium phosphate ceramics. Bull. Tokyo Dent. Coll., Tokio, v.32, n. 3 , p.111-120. Aug. 1991.
36. FUSS, R. et al. Intracanal pH changes of calcium hydroxide pastes exposed to carbon dioxide in vitro. J. Endod., Baltimore, v.22, n.4, p.362-364. 1996.
37. GARNICK, J. et al. Changes in root sensitivity with toothpastes containing Aloe vera and allantoin. Arch. Oral Biol., Oxford, v.39, n.1, p.132. Jan. 1994.
38. GIRO, E. M. A.; IOST, H. I.; LIA, R. C. C. Análise histopatológica comparativa em polpa em dentes de cães, após pulpotomia e utilização de pastas a base de hidróxido de cálcio em diferentes veículos. Rev. Odontol. UNESP, v.23, n.1, p.191-201. 1994.
39. GOMES, I. C. et al. Diffusion of calcium through dentin. J. Endod., Baltimore, v.22, n.9, p.590-595. Nov. 1996.

40. GOMES, M. C. Adesivo dentinário em lesão cáriosa profunda: Análise histológica e imunohistoquímica do complexo dentino-pulpar. 2003. 147 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.
41. GRUENWALD, J. O crescente papel das plantas medicinais nos cuidados de saúde da Europa. *Racine: s/e*, p. 3-5, mar-abr. 1998. 98 p.
42. HEITHERSAY, G. S. Calcium hydroxide in treatment of pulpes teeth with associated pathology. *J. Brit. Endod. Soc., London*, v.8, n.2, p.74-93. 1975.
43. HEYS, D.R. et al. Healing of primate dental pulps capped with teflon. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol., St Louis*, v.69, n. 2, p.227-37. 1990.
44. HINDLER, J. A., JORGERSEN, J. H. Procedures in antimicrobial susceptibility testing. In.: MAHON, C.R.; MANUSELIS, G. JR. (ORG) *Diagnostic microbiology*. 1995, 395p.
45. HIRATA, T., SUGA, T. Biological active constitution of leaves and roots of *Aloe Arborenses var Natalensis*. *Z. Naturforsch. Tubingen* v. 32, n.1, p. 731-734. Jan. 1977.
46. HIRSCHFELD, Z. et al Primary mineralization of dentin in rats after pulp capping with calcium-hydroxide. *J. Oral Pathol.*, v. 11, n. 6, p. 426-433, 1982.
47. HOLLAND, R. et al. Effect of the dressing in root canal treatment with calcium hydroxide. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba, Bauru*, v.7, n.1, p.39-45. Jun.1978.
48. HOLLAND, R. et al. Healing process after pulpotomy and covering with calcium hydroxide, Dycal or MPC. Histological study in dog teeth. *Rev. Fac. Odontol. Araçatuba, Bauru*, v.7, n. 2 , p.185-91. Jun. 1978.

49. HOLLAND, R. et al. Histochemical analysis of the dog's dental pulp capping with calcium, barium, and strontium hydroxide. J. Endod. Baltimore, v.8, n.10, p.444-447, Oct. 1982.
50. HOLLAND, R. Histochemical response of amputated pulps to calcium hydroxide. Rev. Bras. Pesq. Med. Biol., Ribeirão Preto, v. 4, n.1-2, p.83-95. 1971.
51. HOLLAND, R. The odontoblast process: form and function. J. Dent. Res., Washington, v. 64, n. 1, p. 449-514, Apr. 1985.
52. HOLLAND, R., et al Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and covering with Mineral Trioxide Aggregate or Portland Cement. Braz. Dent. J. Ribeirão Preto, v.12, n. 2, p.109-113. Jan. 2001.
53. HOLLAND, R.; SOUZA, V. Tratamento conservador da polpa dental. Técnica da pulpotomia. In: LEONARDO, M. R., LEAL, J. M. Endodontia: tratamento de canais radiculares. 2. ed. São Paulo: Panamericana, 1991. cap. 4, p.40-52.
54. HOLLAND, R. et al. Healing process of dogs dental pulp after pulpotomy and protection with calcium hydroxide or Dycal. Rev. Fac. Odontol. Unesp. Bauru, v.8/9, p. 67-73. Jan. 1980.
55. HOUSTON, W.J.B. A new design of rat mouth prop. J. Dent. Res. Washington, v.43, n. 1, p.458. Jun. 1964.
56. <http://www.who.int/en/>
57. HU, C. et al. Reparative dentin formation in rat molars after direct pulp capping with growth factors. J. Endod. Baltimore, v.24, n.11, p.744-750. Apr. 1998.
58. HUNT, R. J. Percent agreement, pearsons correlation, and Kappa as measures of enter-examiner reliability. J. Dent. Res. Washington, v. 65, n.2, p.128-130. Jun.1986.

59. INGRAHAM, J.L.; INGRAHAM, C.A. Introduction to microbiology. Wadsworth Publishing Company: California. 1995. p.280-284.
60. INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. ISO/TR 7405- 1984: Biological evaluation of dental materials. Genebra, 1984. p. 54.
61. ISAIA, V. G.; CATANZARO-GUIMARÃES, S. A. The formation of reparative dentin in dental pulps after protection with calcium hydroxide, formagen and zinc oxide and eugenol Estomatol. Cult., Bauru, v. 9, n. 2, p. 265-270. jul. 1975.
62. JABER, L.; MASCRES, C.; DONOHUE, W. B. J. Electron microscope characteristics of dentin repair after hydroxyapatite direct pulp capping in rats Oral Pathol Med. Copenhagen, v. 20, n. 10, p. 502-528 Nov. 1991.
63. JASSO DE RODRÍGUEZ, D., et al. Antifungal activity in vitro of Aloe vera pulp and liquid fraction against plant pathogenic fungi. Industrial Crops and Products, Wageningen, v.21, n. 1, p.81-87, Jan. 2005.
64. JEPSEN, S. et al. Recombinant Human Osteogenic Protein-1 induces dentin formation: na experimental study in Miniature swine. J. Endod. Baltimore, v. 23, n. 6, p. 378-382. Jun. 1997.
65. KAO, W.J.; LEE, D. In vivo modulation of host response and macrophage behavior by polymer networks grafted with fibronectin-derived biomimetic oligopeptides: the role of RGD and PHSRN domains. Biomat. Oxford, v. 22, n. 21, p. 2901-2909. Nov. 2001.
66. KIRKWOOD, B. R. Essentials of Medical Statistics. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1988. 200 p.

67. KITASAKO, Y., ARAKAWA, M., SONODA, H. Light and scanning electron microscopy of the inner surfaces of resins used in direct pulp capping. *Am. J. Dent.*, San Antonio, v. 21, n. 5, p. 217-221, Oct. 1999.
68. KLEIN, A. D.; M., PENNEIS, N. S. Aloe vera. *J. Am Acad. Dermatol.*, Oxford v.18, n. 4, p.714-720. Apr. 1988.
69. KOPEL, H. M. Considerations for the direct pulp capping procedure for primary teeth: a review of the literature. *J. Dent. Child.* v.59, n. 2, p.141-149. Mar. 1992.
70. LARRINOVA, M., MENENDEZ, R., VALIENTE, O. Estudio fitoquímico comparativo de los extractos de Aloe barbadensis Miller y Aloe arborescens Miller. In: Compendio de investigaciones sobre el Aloe Barbadensis Miller cultivado en Cuba. La Habana, 1990. 90p.
71. LEE, J. K. et al. Acemannan purified from Aloe vera induces phenotypic and functional maturation of imature dendritic cells. *Int. Immunopharmacol.* Oxford, v.1, n.7, p.1275-1284. Jul. 2001.
72. LIM, B. O. et al., Efficacy of dietary Aloe vera supplementation on hepatic cholesterol and oxidative staus in aged rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, v. 49, n.4, p. 292-296, Aug. 2003.
73. LINDE, A. Cells and extracellular matrix of the dental pulp. *J. Dent. Res.* Washington, v.64, Spec. n. 1, p.523-529. Apr. 1985.
74. LINDE, A. Dentin matrix proteins: composition and possible function in calcification. *Anat. Rec. New York*, v. 224, n. 2, p.154-466. Jun. 1989.
75. LORENZETTI, L. J. et al. Bacteriostatic property of Aloe vera. *J. Pharm. Sci.*, v.53, s/n., p.1287. Oct. 1964.

76. MALTOS, K. L. M. Reatividade vascular e celular da polpa dental de ratos frente a estímulos inflamatórios. 2004. 131 f. Tese (Doutorado em Biologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.
77. MATOS, F. J. A. Farmácias vivas; sistema de utilização de plantas medicinais projeto para pequenas comunidades. 2 ed., Fortaleza: Atual EUFC 1994. 94p.
78. MOODY, J. O.; ADEBIYI, O. A.; ADENIYI, B. A. Do Aloe vera and Ageratum conyzoides enhance the anti-microbial activity of traditional medicinal soft soaps J. Ethnopharmacol. Leiden, v. 92, n. 1, p. 57-60. May. 2004.
79. MORITZ, A. et al. The CO<sub>2</sub> laser as an aid in direct pulp capping. J. Endod. Baltimore, v.24, n. 4, p. 248-251. 1998.
80. NERWICH, A.; FIGDOR, D.; MESSER, H. H. pH changes in root dentine over a 4 week period following root canal dressing with calcium hydroxide. J. Endod., Baltimore, v.19, n.6, p.302-306, Jun. 1993.
81. NI, Y. et al. Isolation and characterization of structural components of Aloe vera L. leaf pulp. Inter. Immunopharm., Texas, v.4, n.14, p. 1745-1755, Dec, 2004.
82. ODES, H.S.; MADAR, Z. A double-blind trial of a celandin, aloe vera and psyllium laxative preparation in adult patients with constipation. Digestion. v.49, n.2, p.65-71. Jun. 1991.
83. OLIVEIRA, D. C., LIA, R. C. C., BENATTI NETO, C. Efeito das pastas à base de hidróxido de cálcio sobre a polpa em molares de ratos, expostas experimentalmente. Estudo histopatológico comparativo. Rev. Odontol. UNESP, v.17, n.1/2, p.43-61. 1988.
84. OLIVEIRA, M. F. Resposta do tecido pulpar à aplicação da pasta à base de hidróxido de cálcio precedida do emprego de curativo de corticosteróide ou

corticosteróide/antibiótico. Estudo histológico em dentes de ratos. Araraquara: FO-UNESP, 2000. 158p. (Dissertação de mestrado em Odontopediatria).

85. ØSTALIVIK, D.; MIJÖR, I. A. Histopatologic and X-ray microanalysis of the subcutaneous tissue response to endodontic sealers. J. Endod. Baltimore. v.14, n.1, p. 1-17, Jul.1998.
86. PAMEIJER, C.H.; STANLEY, H.R. The disastrous of the “total etch” technique in primates. Am. J. Dent. San Antonio, v.11, p.45-54, Jan. 1998.
87. PATERSON, R.C., RADFORD, J.R., WATTS, A. The response of the rat molar pulp to two proprietary calcium hydroxide preparations. Br. Dent. J. London, v. 15, n. 6, p. 184-186, Sep.1981.
88. PEREIRA, J. C. et al. Effect of calcium hydroxide in powder or in paste form on pulp - capping procedures: histopathologic and radiographic analysis in dog’s pulp. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. New York, v.50, n.2, p.176-186, Aug. 1980.
89. PEREIRA, M. G. Epidemiologia: Teoria e prática. Rio de Janeiro: Guanabara, 1995. 355 f.
90. PEUSER, M. Os capilares determinam nosso destino: Aloe imperatriz das plantas medicinais, 2 ed. São Paulo: St. Humbertus Products Naturais, 2003. 124 f.
91. PITT FORD, T.R. et al. Using mineral trioxide aggregate as a pulp-capping material. J. Am. Dent. Assoc. Chicago, v.127, n. 10, p.1491-1494, Jan. 1996.
92. PITT FORD, T.R., Pulpal response to MPC for capping exposures., [Oral Surg Oral Med Oral Pathol](#) St Louis, v.50, n.1, p.81-88, Jul. 1980.
93. POLYMERS, Noveon. The Specialty Chemicals Innovator. Cleveland, 2002. (CD ROM. [www.pharma.noveonc.com](http://www.pharma.noveonc.com)).

94. POOR, M.R.; HALL, J.E.; POOR, A. S. Reduction in the incidence of alveolar osteitis in patients treated with the SaliCept Patch, containing acemannan hydrogel. *J. Oral maxillof Surg. Philadelphia*, v.60, n. 4, p.374-379, Apr. 2002.
95. REHMAN, K. et al. Calcium ion diffusion from calcium hydroxide-containing materials in endodontically treated teeth. An in vitro study. *Int. Endod. J.,Oxford*, v.29, n. 4, p.271-279, Jul.1996.
96. REIS, M.C.; BOORHEM, R.L. Atuação do médico na prática da fitoterapia. *Racine*, s/n, mar/abr, 1998, 78 f.
97. REYNOLDS T, DWECK A C. Aloe vera leaf gel: a review update. *J. Ethnopharmacol. Leiden* , v. 68: n. 3, p. 3-37, 1999.
98. ROBSON M. C. ; HEGGERS, J. P. ; HANGSTROM, W.J. Aloe vera revised. *J. Burn Care Rehabil. St Louis*; v.3: s/n, p.157-1622, Jul.1982.
99. ROIJ, J.T.; Plantas medicinales aromáticas o venenosas en Cuba. La Habana, Editorial Científico-Técnica, 1988. 819-822 p.
100. ROWE, A.H.R. Reaction of the rat molar pulp to various materials. *Br. Dent. J.*, London, v.122, n. 7, p.291-300, Apr.1967.
101. RUTHERFORD, R.B. et al. The time course of the induction of reparative dentine formation in monkeys by recombinant human osteogenic protein-1. *Archs. Oral Biol. Oxford*, v.39, n.10, p.833-838. Out.1994.
102. SAMPAIO, P. Placement of a rubber dam on rat molars. *J. Dent. Res.*,Washington, v.46, n.5, p.1102, Sep.1967.
103. SANTOS, V.R et al.. Oral candidiasis treatment with Brazilian ethanolic propolis extract. *Phytotherapy Res.* (accepted for publication in may 2004).

104. SASAKI, T.; KAWAMATA-KIDO, H. Providing an environment for reparative dentine induction in amputated rat molar pulp by high molecular-weight hyaluronic acid. *Arch. Oral Biol. Oxford*, v.40, n.3, p.209-219, March. 1995.
105. SAZAK, H.; GUNDAY, M.; ALATLI, C. Effect of calcium hydroxide and combinations of Ledermix and calcium hydroxide on inflamed pulp in dog teeth. *J. Endod. Baltimore*, v. 22, n. 9 p. 447-449, Sep. 1996.
106. SCHRÖDER, U.; SUNDSTROM, B. Transmission electron microscopy of the tissue change following experimental pulpotomy of intact human teeth and capping with calcium hidroxide. *Odontol. Revy. Stockholm*, v.25, n. 1 p. 57-68, Jan. 1974.
107. SCHUURS, A.H.B.; GRUYTHUYSEN, R.J.M.; WESSELINK, P.R. Pulp capping with adhesive resin-based composite vs. calcium hydroxide: a review. *Endod. & Dent. Traumatol. Copenhagen*, v.16, p.240-250, Dec. 2000.
108. SEUX, D. M. L. et al. Odontoblast like cytodifferentiation of human pulp cells in vitro in the presence of a calcium hydroxide-containing cement. *Archs. Oral Biol.*, Oxford, v.36. n.2, p.117-128, Jan. 1991.
109. SEYGER, M. M. et al. The efficacy of topical treatment for psoriasis: *Mirak. J. of the Eur Acad of Dermatol and Venereol. Amsterdam*, v. 11, n. 1, p. 13-18. Jul. 1998.
110. SILVA, G. A. B. Capeamento pulpar direto com sistema adesivo dentinário: Estudo clínico e avaliação morfológica do complexo dentino-pulpar. 2003. 261 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais Belo Horizonte, 2003.
111. SMITH, H. S., SONI, N. N. Hystologic study of pulp capping in rat mollar using calcitonin. *Oral Surg. New York*, v.53, n. 3, p.311-7, March. 1982.

112. SOARES, M.S.M. et al., Proteção pulpar direta com hidróxido de cálcio e hidroxiapatita. Estudo histopatológico em polpas de dentes humanos. RGO, Porto Alegre, v. 43, n. 3, p. 137-140, Jan. 1995.
113. STANLEY, H.R. Criteria for standardizing and increasing credibility of direct pulp capping studies. Am. J. Dent. San Antonio, v. 11, p. 17-34, Apr. 1998.
114. TEN CATE, A.R. Dentin-pulp complex. In: Oral Histology: Developmental, Structure, and Function. 4 ed., Mosby, St. Louis, 1998. 439p.
115. TEN CATE, A.R. Reaction paper session – Odontoblasts. J. Dent. Res., Washington, v. 64, Special tissue, Apr. 1985, 585 p.
116. TORABINEJAD, M. et al., Physical and chemical properties of a new root-end filling material. J. Endod. Baltimore, v.21, n.7, p.349-353, Jul.1995.
117. TORABINEJAD, M.; CHIVIAN, N. Clinical applications of Mineral Trioxide Aggregate. J. Endod. Baltimore, v.25, n.3, p.197-205, March. 1999.
118. TRONSTAD, L. et al., pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. J. Endod., v.7, n.1, p.17-21, Jan., 1981.
119. TZIAFAS, D. Basic mechanisms of cytodifferentiation and dentinogenesis during dental pulp repair. Int. J. Dev. Biol. Vizcaya, v.39, n. 1, p.281-290, Feb. 1995.
120. TZIAFAS, D. et al., Induction of odontoblast-like cell differentiation in dog dental pulps after in vivo implantation of dentine matrix components. Archs Oral Biol. Oxford, v.40, n.10, p.883-893, Oct. 1995.
121. TZIAFAS, D. et al., The dentinogenic effect of mineral trioxide aggregate (MTA) in short-term capping experiments. Int. Endod. J. Oxford, v.35, p.245-254, march. 2002.

122. TZIAFAS, D.; PAPADIMITRIOU, S. Role of exogenous TGF- $\beta$  in induction of reparative dentinogenesis in vivo. *Eur. J. Oral Sci. Copenhagen*, v.106, n.1, p.192-196, Jan. 1998.
123. TZIAFAS, D.; SMITH, A. J.; LESOT, H. Designing new treatment strategies in vital pulp therapy. *J. Dent. Kidlington*, v.28, n. 2, p.77-92, Feb. 2000.
124. VIANA, G. S. B.; BANDEIRA, M. A. M.; MATOS, F .J. A. Guia Fitoterápico. Secretaria da Saúde. Programa Estadual de Fitoterapia. DAF, Fortaleza-CE, 1998.
125. VILLALOBOS O. C.; SALAZAR C. R.; Efecto de um enjuague bucal compuesto de Aloe Vera en la placa bacteriana e inflamación gingival. *Acta Odontológica Venezolana Caracas* v. 39, n. 2. p. 1-17, abr. 2001.
126. WAKABAYASHI, H. et al., Bio-microscopical observation os dystrophic calcification induced by calcium hydroxide. *Endod. Dent. Traumatol.*, v.9, n.4, Aug.,Jan. 1993.
127. WANG, J. D.; HUME, W. R. Difusion of hydrogen ion and hydroxil ion from various sources through dentine. *Int. Endod. J. Baltimore*, v.21, n.1, p-17-26, Jan, 1988.
128. WATTS, A.; PATERSON, R. C. The responses of mechanically exposed pulp to prednisolone and triamnisolone acetone. *Int. Endod. J. Oxford*, v.21, n.1, p.9-16, Jan. 1988.
129. WHO. Health Research methodology: a guide for training in research methods. Manila: WHO, 1992. p. 91-100.
130. YAMADA, C.S.B. Fitoterapia sua história e importância. Recife, s/e, mar/abr 1998, 98p.

- 131.** YOSHIBA, K.; YOSHIBA, N.; IWAKU, M. Effects of antibacterial capping agents on deental pulps of monkeys mechanically exposed to oral microflora. *J. endod.* Baltimore, v.21, n.1, p. 16-20, Jan. 1995.
- 132.** YOSHIMINE, Y.; MAEDA, K. Histologic evaluation of tetracalcium phosphate-based cement as a direct pulp-capping agent. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, St Louis, v.79, n.3, p.351-358, Mar. 1995.
- 133.** ZHANG, L.; TIZARD, I. R. Activation of a mouse macrophage cell line by acemannan: the major carbohydrate fraction from Aloe vera gel *Immunopharmacology*, v.35, p.119-28. Nov. 1996.