



BAHIANA
ESCOLA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

**ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

MARCOS VINICIUS COOK FERNANDES

**MINERALIZAÇÕES PULPARES: ANÁLISE MORFOLÓGICA ATRAVÉS
DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E QUANTIFICAÇÃO
QUÍMICA ATRAVÉS DE ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE
RAIOS X**

**PULP MINERALIZATIONS: MORPHOLOGICAL ANALYSIS THROUGH
SCANNING ELECTRON MICROSCOPY AND CHEMICAL QUANTIFICATION
THROUGH ENERGY-DISPERSIVE X-RAY SPECTROSCOPY**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Salvador/BA
2020**

MARCOS VINICIUS COOK FERNANDES

**“MINERALIZAÇÕES PULPARES: ANÁLISE MORFOLÓGICA ATRAVÉS
DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E QUANTIFICAÇÃO
QUÍMICA ATRAVÉS DE ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE
RAIOS X”**

**PULP MINERALIZATIONS: MORPHOLOGICAL ANALYSIS THROUGH
SCANNING ELECTRON MICROSCOPY AND CHEMICAL QUANTIFICATION
THROUGH ENERGY-DISPERSIVE X-RAY SPECTROSCOPY**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Odontologia da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientadora: Profa. Dra. Alena Ribeiro Alves Peixoto Medrado.

Co-orientador: Prof. Dr. Ronaldo Araújo Souza.

Salvador/BA
2020

Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas

F363Fernandes, Marcos Vinicius Cook

Mineralizações pulpares: análise morfológica através de microscopia eletrônica de varredura e quantificação química através de espectroscopia de energia dispersiva de raios X.
/ Marcos Vinicius Cook Fernandes. – 2020.

81f.: 30cm.

Orientadora: Profa. Dra. Alena Ribeiro Alves Peixoto Medrado

Coorientador: Prof. Dr. Ronaldo Araújo Souza

Mestre em Odontologia.

Inclui bibliografia

1. Obtenção do canal radicular. 2.Preenchimento do canal radicular. 3.Periodonite apical. 4. Lesão periapical. 4. Reparo periapical. 5. Desfecho endodôntico. I. Medrado, Alena Ribeiro Alves Peixoto. II. Mineralizações pulpares: análise morfológica através de microscopia eletrônica de varredura e quantificação química através de espectroscopia de energia dispersiva de raios X.

CDU: 616.314

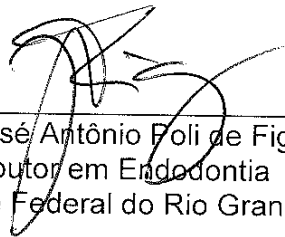
MARCOS VINÍCIUS COOK FERNANDES

**“MINERALIZAÇÕES PULPARES: ANÁLISE MORFOLÓGICA ATRAVÉS
DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E QUANTIFICAÇÃO
QUÍMICA ATRAVÉS DE ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE
RAIOS X”**

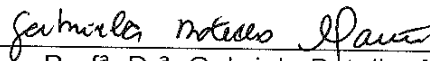
Dissertação apresentada à Escola
Bahiana de Medicina e Saúde
Pública, como requisito parcial para
a obtenção do Título de Mestre em
Odontologia.

Salvador, 09 de dezembro de 2019.

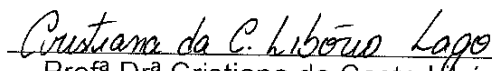
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. José Antônio Foli de Figueiredo
Doutor em Endodontia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul



Prof.ª Dr.ª Gabriela Botelho Martins
Doutora em Odontologia (Estomatologia Clínica)
Universidade Federal da Bahia – UFBA



Prof.ª Dr.ª Cristiana da Costa Libório Lago
Doutora em Medicina e Saúde Humana
Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, EBMSP

INSTITUIÇÕES ENVOLVIDAS

Instituições apoiadoras:

Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS

Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS

Universidade de Lódz

Escola Bahiana de Medicina e saúde Pública – EBMSP

Instituição financiadora:

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – Fapesb

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, em especial aos meus pais, Helio e Monica, por todo o apoio e pelo incentivo! Suporte fundamental para todo o meu desenvolvimento pessoal e profissional! Rômulo, Veronica, Diego e Laura por alegrar meus dias, e assim, tudo ficar mais leve.

Agradeço à Profa. Alena pelas valiosas contribuições científicas, pela orientação atenta, pela generosidade, pelo incentivo, disponibilidade e serenidade que me passou no enfrentamento das adversidades!

Agradeço ao Prof. Ronaldo que, desde a graduação, passando pelos Cursos de Aperfeiçoamento e Especialização em Endodontia, e durante todo o processo intenso do Mestrado, me revelou a grandeza e a responsabilidade da docência, me ensinou a ponderar, a discernir e a estimular o pensamento no processo de aprendizagem. Muito obrigado pela orientação neste trabalho e por me proporcionar o contato com pesquisadores de tanto prestígio!

Agradeço ao Prof. Figueiredo toda a generosidade, ensinamentos, acolhimento, disponibilidade e confiança na condução deste trabalho! Uma alegria e honra tê-lo nesta etapa da minha formação!

Agradeço à Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, à Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS e à Universidade de Łódź pela parceria, em especial à Profa. Aleksandra Palatynska-Ulatowska.

Agradeço ao Prof. Urbino, que com a suavidade que lhe é característica, me incentiva a ser um profissional cada dia melhor!

Agradeço aos meus queridos mestres João Dantas, Maurício Lago e Suely Colombo pelos ensinamentos dentro e fora da endodontia, e por sempre estarem disponíveis para me ensinar cada dia mais! Um privilégio tê-los por perto!

Agradeço às minha amigas e colegas Viviane, Manuela, Roberta, Ilana, Iza, Ana Luisa e Raquel por estarem ao meu lado, me ajudando e me apoiando sempre que necessário!

Agradeço aos colaboradores, colegas e amigos da Bahiana;

Agradeço aos alunos do Curso de Odontologia da Bahiana que tive a oportunidade de acompanhar ao longo de dois anos e meio. Aprendi muito com todos e levo essa experiência pra minha vida docente!

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – Fapesb pela bolsa e apoio concedidos para a realização do mestrado!

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figuras 1 e 2 - Radiografias pré-operatórias que evidenciam nódulos pulpares em polpa coronária de molares superiores.	36
Figura 3 - Nódulo pulpar no interior da cavidade pulpar.	37
Figura 4 - Nódulo pulpar difuso no interior da cavidade pulpar.	38
Figura 5 - Nódulo pulpar coronário difuso fragmentado em duas partes.	38
Figura 6 - Fotomicrografia de um fragmento de nódulo coronário difuso (MEV, 85x).	40
Figura 7 - Fotomicrografia de superfície compacta e lisa do nódulo 01 (MEV, 2.000x).	41
Figura 8 - Fotomicrografia de superfície porosa, com relevo acidentado do nódulo 01 (MEV, 10.000x).	41
Figura 9 - Fotomicrografia de estruturas tubulares em área de fratura do fragmento (MEV, 2.000x).	42
Figura 10 - Fotomicrografia de estrutura tubular com presença de calcosferitos (MEV, 20.000x).	42
Figura 11 - Fotomicrografia de nódulo coronário ovóide alongado (MEV, 85x).	43
Figura 12 - Fotomicrografia apresentando topografia irregular do nódulo com poucas zonas lisas (MEV, 500x).	44
Figura 13 - Fotomicrografia de superfície lisa com presença de poros (MEV, 10.000x).	44
Figura 14 - Fotomicrografia apresentando padrão de cristalização esférico (MEV, 50.000x).	45
Figura 15 - Fotomicrografia de extremidade do nódulo com relevo bastante irregular (MEV, 500x).	45
Figura 16 - Fotomicrografia de formações de cristas e depressões (MEV, 10.000x).	46
Figura 17 - Fotomicrografia de nódulo coronário com formato ovóide (MEV, 85x).	47
Figura 18 - Fotomicrografia de superfície lisa e compacta (MEV, 2.000x).	47
Figura 19 - Fotomicrografia apresentando zona porosa com topografia irregular (500x).	48
Figura 20 - Fotomicrografia revelando padrão de cristalização desorganizado. Presença de hemácia (seta) (MEV, 10.000x).	48
Figura 21 - Fotomicrografia de nódulo coronário com formato ovóide (MEV, 85x).	49
Figura 22 - Fotomicrografia de superfície lisa e compacta (MEV, 2.000x).	50
Figura 23 - Fotomicrografia de proeminência do nódulo com superfície rugosa (MEV, 500x).	50
Figura 24 - Fotomicrografia de zona rugosa em maior aumento com projeções em forma de lascas (MEV, 2.000x).	51

Figura 25 - Fotomicrografia de nódulo coronário com formato retangular (MEV, 85x).	52
Figura 26 - Fotomicrografia de superfície lisa e compacta (MEV, 500x).	52
Figura 27 - Fotomicrografia de superfície nodular recoberta com substância exógena (MEV, 500x).	53
Figura 28 - Fotomicrografia de formações cristalinas de cloreto de sódio (MEV, 10.000x).	53
Figura 29 - Fotomicrografia de nódulo radicular com morfologia alongada e tubular (MEV, 50x).	55
Figura 30 - Fotomicrografia de superfície com áreas sulcadas e trajeto sinuoso (MEV, 500x).	55
Figura 31 - Fotomicrografia de superfície com projeções com relevo irregular (MEV, 500x).	56
Figura 32 - Fotomicrografia revelando presença de cristas e sulcos com poros profundos (MEV, 10.000x).	56
Figura 33 - Fotomicrografia de nódulo radicular com morfologia de filete (MEV, 30x).	57
Figura 34 - Fotomicrografia de superfície com áreas sulcadas e trajeto sinuoso (MEV, 500x).	57
Figura 35 - Fotomicrografia de padrão de cristalização formando cordões, com reentrâncias profundas (MEV, 10.000x).	58
Gráfico 1 - composição química de área lisa e porosa do nódulo coronário 01.	43
Gráfico 2 - composição química de área porosa do nódulo coronário 02.	46
Gráfico 3 - composição química de área lisa e compacta do nódulo coronário 03.	49
Gráfico 4 - composição química de área lisa e compacta do nódulo coronário 04.	51
Gráfico 5 - composição química de área lisa e compacta do nódulo coronário 05.	54
Gráfico 6 - composição química de substância exógena sobre a superfície do nódulo 05.	54
Gráfico 7 - composição química de área lisa, levemente sulcada, do nódulo radicular 06.	58
Gráfico 8 - composição química de área porosa do nódulo radicular 07.	59
Quadro 1 - Quadro descritivo indicando localização, relação com parede dentinária, morfologia, tamanho e topografia predominante das mineralizações.	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tabela comparativa indicando localização, topografia da área analisada, elementos químicos encontrados em ordem decrescente de concentração, com respectivo percentual, e razão molar Ca/P.	60
--	----

SUMÁRIO

MANUSCRITO I	10
RESUMO	11
ABSTRACT	12
1 INTRODUÇÃO	13
2 MATERIAIS E MÉTODOS	15
3 RESULTADOS	18
4 DISCUSSÃO	21
5 CONCLUSÃO	26
REFERÊNCIAS	27
MANUSCRITO II	30
RESUMO	31
ABSTRACT	32
1 INTRODUÇÃO	33
2 MATERIAIS E MÉTODOS	36
3 RESULTADOS	40
4 DISCUSSÃO	61
4.1 Análise morfológica	63
4.2 Análise topográfica	66
4.3 Análise estrutural	67
4.4 Quantificação química em EDX	68
5 CONCLUSÃO	71
REFERÊNCIAS	72
ANEXOS	77

**AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DA INFLUÊNCIA DA OBTURAÇÃO DO
CANAL RADICULAR NO REPARO DA PERIODONTITE APICAL EM ANIMAIS –
UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

**HISTOPATHOLOGICAL EVALUATION OF THE INFLUENCE OF ROOT CANAL
OBTURATION IN THE REPAIR OF APICAL PERIODONTITIS IN ANIMALS - A
SYSTEMATIC REVIEW**

MANUSCRITO I

RESUMO

A obturação do canal radicular tem sido considerada um fator decisivo no sucesso do tratamento endodôntico. O objetivo desta revisão sistemática foi avaliar estudos em animais que utilizaram parâmetros histopatológicos para determinar a influência da obturação do canal radicular no processo de reparo da periodontite apical. As buscas foram realizadas nas bases de dados PubMed, Lilacs, Scielo, Science Direct e BBO, utilizando palavras-chave indexadas e não indexadas. Foram considerados artigos publicados no período de 2003 a 2019 e aplicados critérios de inclusão e exclusão para seleção dos artigos. Cinco artigos atenderam aos critérios de elegibilidade e foram incluídos para análise qualitativa na revisão sistemática. A obturação do canal radicular, no que diz respeito ao seu limite apical, pode influenciar o reparo da periodontite apical, quando há presença de bactérias remanescentes no interior do canal. O uso de cimentos endodônticos com propriedades antimicrobianas não foi efetivo na eliminação de bactérias residuais do canal radicular e na reparação completa da periodontite apical.

Palavras-chave: Obturação do canal radicular. Preenchimento do canal radicular. Periodontite apical. Lesão periapical. Reparo periapical. Cura periapical. Desfecho endodôntico.

ABSTRACT

The root canal obturation has been considered a decisive factor in the success of endodontic treatment. The objective of this systematic review was to evaluate animal studies that used histopathological parameters to determine the influence of root canal obturation on the apical periodontitis repair process. The searches were performed in PubMed, Lilacs, Scielo, Science Direct and BBO databases using indexed and non-indexed keywords. Articles published between 2003 and 2019 were considered and inclusion and exclusion criteria were applied to select articles. Five articles met the eligibility criteria and were included for qualitative analysis in the systematic review. The root canal obturation, with respect to its apical limit, may influence the repair of apical periodontitis when there are remaining bacteria inside the canal. The use of endodontic sealers with antimicrobial properties was not effective in eliminating residual root canal bacteria and in complete repair of apical periodontitis.

Key-words: Root canal obturation. Root canal filling. Apical periodontitis. Periapical lesion. Periapical repair. Periapical healing. Endodontic outcome.

1 INTRODUÇÃO

A obturação do canal radicular tem sido considerada um fator decisivo no sucesso do tratamento endodôntico. Inúmeros estudos epidemiológicos têm mostrado alta prevalência de periodontite apical em dentes com obturação radicular inadequada⁽¹⁻³⁾.

Aspectos como o limite apical e homogeneidade da obturação e as características dos cimentos obturadores, como biocompatibilidade, potencial antimicrobiano, ação mineralizadora e capacidade de selamento, têm sido apontados como fatores que influenciam a saúde dos tecidos perirradiculares após o tratamento endodôntico. Alguns autores consideram a conicidade da obturação radicular como a característica mais importante na avaliação da qualidade do tratamento endodôntico⁽⁴⁾.

A literatura aponta os maiores índices de sucesso quando o limite apical da obturação se situa entre 0 e 2 mm aquém do ápice radicular radiográfico e na imagem radiográfica não se observa a presença de espaços vazios no canal, indicando uma adequada condensação do material obturador⁽⁵⁾.

A maior parte das pesquisas que avaliaram a influência da obturação do canal radicular no reparo da periodontite apical consistiu na análise radiográfica de dentes através de estudos transversais. Apesar de esses estudos possuírem amostras com grande número de pessoas, o que constitui uma grande vantagem, algumas limitações são observadas. A falta de informações da história da doença não permite determinar se as lesões presentes estão em processo de cura ou expansão. As análises através de radiografias, que fornecem imagens bidimensionais, podem não detectar lesões presentes nos espaços ósseos medulares que não tenham rompido a cortical óssea, além daquelas que se expandem no sentido vestibulo-palatino/lingual⁽⁶⁾.

Análises através de tomografia computadorizada cone-beam podem revelar lesões não detectadas através das radiografias⁽⁶⁾, porém o alto custo necessário para

avaliação em uma amostra significativa torna este tipo de estudo difícil de ser realizado.

Ao mesmo tempo, a literatura é escassa em estudos que utilizam a análise histopatológica do processo de reparo após o tratamento endodôntico não-cirúrgico, particularmente pelas dificuldades impostas por questões éticas quando da realização desse tipo de análise em humanos.

O objetivo desta revisão sistemática de literatura foi avaliar, a partir dos resultados encontrados, estudos que utilizaram parâmetros histopatológicos para determinar a influência da obturação do canal radicular no processo de reparo da periodontite apical, em animais portadores de dentes permanentes com necrose pulpar e lesão periapical.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a condução metodológica da revisão sistemática da literatura foi elaborada inicialmente a seguinte questão clínica a ser respondida: em animais submetidos a tratamento endodôntico não cirúrgico de dentes permanentes com necrose pulpar e lesão periapical, as características da obturação radicular influenciam o processo de reparo periapical?

A formulação da pergunta seguiu os princípios no anagrama PICO, sendo: (P) Animais submetidos a tratamento endodôntico não cirúrgico de dentes permanentes; (I) obturação radicular; (C) características da obturação; (O) reparo periapical.

As palavras-chave de busca foram escolhidas dentro do vocabulário indexado (MeSH) e não-indexado, sendo elas: “root canal obturation” (MeSH), “root canal filling”, “periapical repair”, “periapical healing”, “periapical lesion”, “endodontic outcome” e “apical periodontitis” (MeSH).

Para selecionar artigos que respondessem à questão clínica, foram definidos os seguintes critérios de inclusão e exclusão (veja tabela 01):

Tabela 01. Critérios de inclusão e exclusão

Critérios de inclusão:	Critérios de exclusão:
<ol style="list-style-type: none"> 1. Estudos em animais; 2. Tratamento endodôntico de dentes permanentes com necrose pulpar e lesão periapical; 3. Tratamento endodôntico não cirúrgico; 4. Avaliação baseada na análise histopatológica; 5. Estudos que avaliem relação entre as características da obturação (limite apical; homogeneidade; conicidade; selamento lateral, biocompatibilidade do cimento) e presença ou não de reparo periapical (saúde periapical); 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Estudos em humanos; 2. Estudos <i>in-vitro</i>; 3. Dentes com rizogênese incompleta; 4. Dentes com anomalias, doença periodontal, perfurações e/ou reabsorções; 5. Dentes reimplantados; 6. Tratamento endodôntico regenerativo; 7. Tratamento endodôntico em dentes com polpa viva; 8. Tratamento endodôntico associado ao tratamento cirúrgico; 9. Dentes sem restauração coronária; 10. Dentes com canais parcialmente obturados (preparados para pino); 11. Relatos de caso, séries de casos, revisões de literatura, capítulos de livro, teses de dissertações de mestrado e doutorado, estudos observacionais; 12. Estudos que não avaliaram a relação entre as características da obturação e o reparo periapical; 13. Associação do tratamento endodôntico com alguma doença sistêmica específica ou utilização de alguma medicação sistêmica pelo animal;

Fonte: próprio autor.

Foram considerados artigos publicados no período de 2003 a 2019. As buscas foram realizadas em setembro/2019, nas bases de dados PubMed, Lilacs, Scielo, Science Direct e BBO, utilizando filtros específicos para cada uma, em razão das características de busca inerentes à cada plataforma. A tabela 02 detalha as estratégias de busca em cada base de dado.

Tabela 02. Filtros utilizados e estratégias de busca

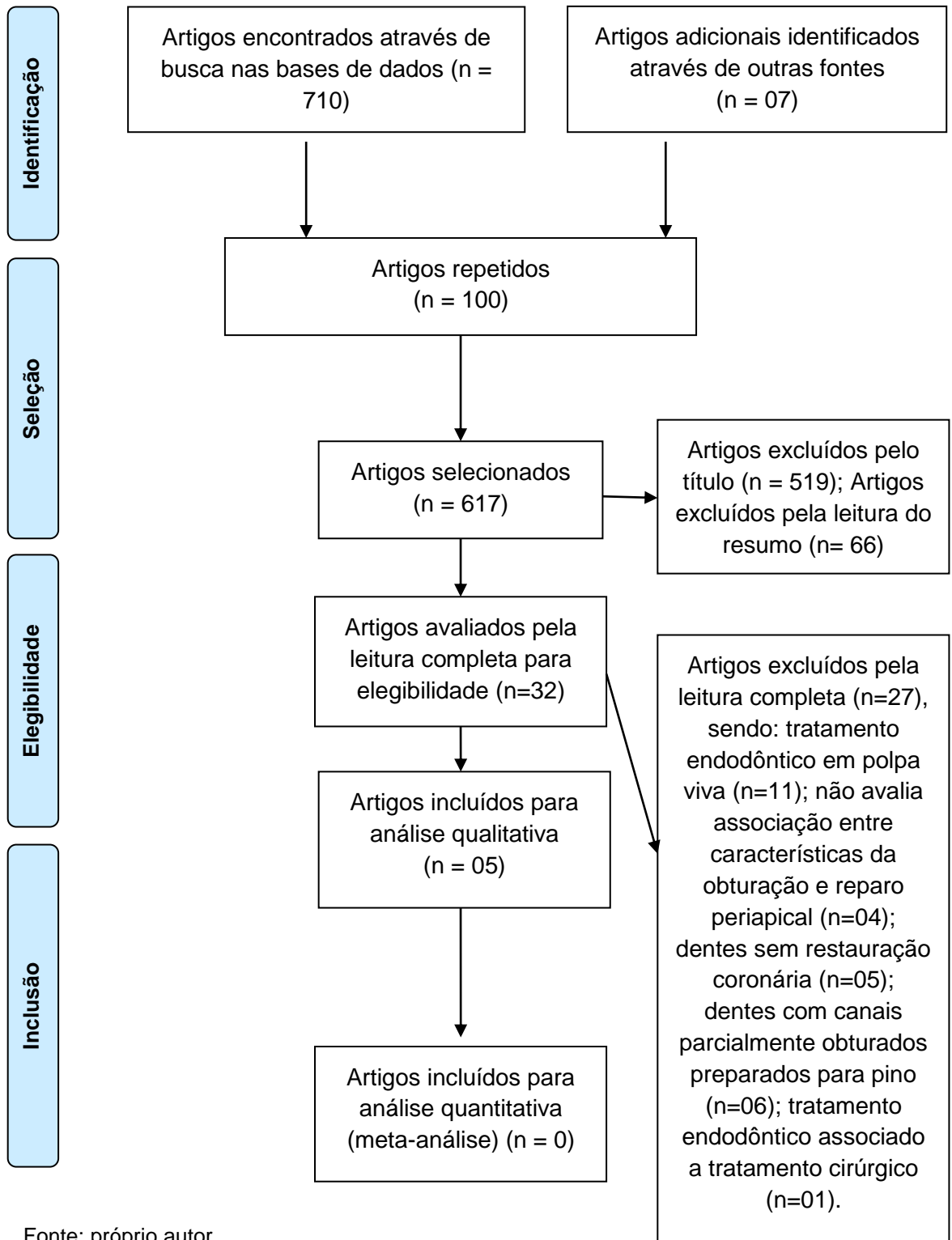
	PubMed	Lilacs	Scielo	Science Direct	BBO
Filtros	Estudos em animais; período: 2003-2019	Período: 2003-2019	Período: 2003-2019	Período: 2003-2019	Período: 2003-2019
Estratégias de busca	((((("root canal obturation"[Title/Abstract]) OR "root canal filling"[Title/Abstract]) OR "periapical repair"[Title/Abstract]) OR "periapical healing"[Title/Abstract]) OR "periapical lesion"[Title/Abstract]) OR "endodontic outcome"[Title/Abstract]) OR "apical periodontitis"[Title/Abstract]	root canal obturation OR root canal filling OR periapical repair OR periapical healing OR periapical lesion OR apical periodontitis OR endodontic outcome [Words] and animals [Limits] and "2003" or "2004" or "2005" or "2006" or "2007" or "2008" or "2009" or "2010" or "2011" or "2012" or "2013" or "2014" or "2015" or "2016" or "2017" or "2018" or "2019" [Country, year publication]	(ab:("root canal obturation")) OR (ab:("root canal filling")) OR (ab:("periapical repair")) OR (ab:("periapical healing")) OR (ab:("periapical lesion")) OR (ab:("endodontic outcome")) OR (ab:("apical periodontitis")) AND year_cluster:("2014" OR "2016" OR "2017" OR "2009" OR "2012" OR "2015" OR "2013" OR "2011" OR "2007" OR "2008" OR "2010" OR "2004" OR "2019" OR "2005" OR "2006" OR "2003") AND type:("research-article")	(root canal obturation OR root canal filling OR periapical repair OR periapical healing OR periapical lesion OR endodontic outcome OR apical periodontitis) AND (dogs OR dog OR rats OR rat OR primate OR primates OR mice OR mices OR animal OR animals)	root canal obturation OR root canal filling OR periapical repair OR periapical healing OR periapical lesion OR apical periodontitis OR endodontic outcome [Words] and animals [Limits] and "2003" or "2004" or "2005" or "2006" or "2007" or "2008" or "2009" or "2010" or "2011" or "2012" or "2013" or "2014" or "2015" or "2016" or "2017" or "2018" or "2019" [Country, year publication]

Fonte: próprio autor.

3 RESULTADOS

A busca nas 05 bases de dados resultou na identificação de 710 artigos, sendo 324 (PubMed), 239 (Scielo), 62 (ScienceDirect), 49 (Lilacs) e 36 (BBO). Após a remoção de 100 estudos repetidos, os títulos dos 610 artigos foram analisados, e verificou-se que 519 não se enquadravam nos critérios de inclusão, sendo então automaticamente excluídos. Os 91 artigos remanescentes, nos quais no título não continha informação suficiente para determinar a sua exclusão, foram selecionados para a leitura do resumo. Novamente foram excluídos aqueles que não estavam em conformidade com os critérios de inclusão/exclusão, totalizando 66 artigos. Após este processo, foram selecionados 25 artigos para leitura completa do texto. Através da busca manual nas referências bibliográficas desses artigos, foram identificados mais 07 artigos que poderiam atender aos critérios de inclusão, resultando em 32 artigos para leitura completa. Novamente foram observados os critérios de elegibilidade e, ao final, foram selecionados 05 artigos para inclusão e análise qualitativa na revisão sistemática. A figura 01 apresenta o fluxograma do processo de seleção dos artigos e a tabela 03 apresenta o resumo das características e resultados dos estudos incluídos na revisão sistemática.

Figura 01. Fluxograma do processo sistemático da busca dos artigos.



Fonte: próprio autor.

Tabela 03. Resumo das características e resultados dos estudos incluídos na revisão sistemática.

Estudo	Animal	Nº amostra	Dentes utilizados	Técnica de preparo	Limite apical de trabalho	Solução irrigadora	Instrumentação do forame	Remoção da camada residual/Medicação intracanal	Tipo de obturação	Variável analisada	Resultados
Leonardo et al (2003)	Cães	03 cães (44 canais)	Pré-molar	Coroa-ápice; Até lima #70	02 mm aquém ápice radiográfico	NaOCl 2,5%	Sim. Até lima K# 30	Sim. EDTA 17% por 3 min/Sim. Ca(OH)2 + PMCC por 15 dias	Guta percha e cimento por condensação lateral	Tipo de cimento (Sealapex; AH Plus; Sealer Plus)	Sealapex e AH Plus mostraram resultados satisfatórios levando ao reparo periapical. Sealer Plus mostrou resultados insatisfatórios e considerado irritante tecidual.
Fabrícius et al (2006)	Macacos	08 macacos (175 canais)	Não específica.	Não específica	Não específica	NaOCl 1,0% e H2O2 a 10%	Não específica	Não/Não	Guta percha e cloropercha. Não específica técnica de obturação	Limite apical (< 0,5 mm do ápice; entre 0,5 e 2,5 mm do ápice; > 2,5 mm do ápice; sobreobturado)	Quando bactérias não permanecem no canal, o reparo periapical ocorreu independentemente do limite apical da obturação. Quando bactérias permaneceram no canal, houve uma forte correlação entre ausência de reparo e obturações inadequadas.
Sabeti et al (2006)	Cães	07 cães (56 canais)	Pré-molar	Coroa-ápice; Até lima #70	1,5 a 2,0 mm do ápice radiográfico	NaOCl 5,25%	Sim. Até lima K# 40	Sim. EDTA 17% por 3 min/Não	Guta percha e cimento por condensação lateral	Presença ou ausência da obturação radicular (selamento)	Não houve diferença estatisticamente significativa no reparo da periodontite apical entre os dentes obturados e não obturados.
Borlina et al (2010)	Cães	02 cães (40 canais)	Incisivos e pré-molares	Coroa-ápice; Até lima #55	limite CDC (sensação tátil)	NaOCl 2,5%	20 dentes com ampliação do forame (até lima K #25) e 20 dentes sem ampliação do forame	Sim. EDTA 17% por 3 min/Sim. Ca(OH)2 + solução salina por 21 dias	Guta percha e cimento por condensação lateral	Limpeza de forame (com/sem) e tipo de cimento (Sealer 26; Endomethasone)	Os dentes tratados com ampliação do forame e com o cimento Sealer 26 apresentaram resultados mais favoráveis de reparo das lesões periapicais crônicas.
Gomes-Filho et al (2013)	Cães	02 cães (64 canais)	Incisivos, caninos e pré-molares	Não específica técnica. Até lima K #40	01 mm aquém ápice radiográfico	NaOCl 2,5%	Sim. Até lima K# 20	Sim. EDTA 17% por 3 min/Não.	Guta percha e cimento por condensação lateral	Tipo de cimento (Sealapex; Endo-CPM-Sealer; MTA-Fillpex)	Os três cimentos utilizados produziram padrão similar de reparo. O preparo de canais infectados, obturados com estes cimentos, foi insuficiente para promover o total reparo periapical.

Fonte: próprio autor.

4 DISCUSSÃO

As características da obturação, no que tange aos aspectos técnicos como limite apical, homogeneidade e ausência de espaços vazios no canal, são tidas como fatores importantes no sucesso da terapia endodôntica⁽⁷⁻¹⁰⁾. A composição e biocompatibilidade dos cimentos obturadores também têm levantado questionamentos sobre qual o melhor material a ser utilizado. Acredita-se que o processo de reparo da periodontite apical seja influenciado pela biocompatibilidade do cimento, e que este deva exercer, através de seus componentes, efeitos antimicrobianos e indutores da mineralização^(11,12).

O processo de reparo da periodontite apical tem sido avaliado através de diferentes meios. As radiografias periapicais são os exames complementares mais utilizados para a preservação dos tratamentos endodônticos, porém, López et al. (2014)⁽¹³⁾ afirmam que este tipo de radiografia fornece informações limitadas quanto à presença de lesões periapicais e não deveriam ser utilizadas em investigações científicas.

Estudos mostram que a tomografia computadorizada de feixe cônico é superior em detectar a presença de lesões apicais quando comparadas às radiografias periapicais⁽¹⁴⁻¹⁵⁾. Entretanto, a análise histopatológica continua sendo o padrão-ouro para avaliar o reparo periapical⁽¹⁶⁾.

O limite apical da obturação tem sido considerado um fator importante no processo de reparo da periodontite apical⁽⁵⁾.

Numa revisão sistemática da literatura com meta-análise, Schaeffer et al. (2005)⁽¹⁷⁾ afirmam que a melhor taxa de sucesso é alcançada quando a obturação do canal radicular é realizada aquém do ápice radicular.

A grande maioria dos estudos que avaliaram a influência do limite apical da obturação no reparo da periodontite apical consistiu em análises radiográficas ou tomográficas de dentes tratados endodonticamente, não sendo possível, desta forma, determinar outros critérios que interferem no processo de reparo, como por

exemplo, a qualidade do preparo químico-mecânico, ou seja, do controle de infecção do sistema de canais radiculares.

Somente um artigo selecionado nesta revisão avaliou histopatologicamente o efeito do limite apical da obturação no processo de reparo da periodontite apical. Fabrícus et al. (2006)⁽¹⁸⁾ afirmam que, se bactérias persistirem no canal, o limite apical da obturação >2,5mm está fortemente relacionado com ausência de reparo periapical. Caso bactérias não persistam no canal radicular após o preparo químico-mecânico, o processo de reparo irá ocorrer independentemente do limite apical da obturação. Os autores ainda afirmam que a presença de bactérias no canal radicular após a obturação está significativamente relacionada com a persistência da lesão. Outros autores corroboram estes resultados. Chandra (2009)⁽¹⁹⁾ afirma que vários fatores podem interferir no resultado da terapia endodôntica, entre eles a qualidade da obturação radicular, porém, para o autor, o sucesso depende da eliminação da infecção endodôntica do canal radicular.

Nair (2004)⁽²⁰⁾ afirma que a principal causa dos insucessos endodônticos é à presença de bactérias no sistema de canais radiculares. Ng et al. (2008)⁽²¹⁾, numa revisão sistemática com meta-análise, avaliaram radiograficamente a influência do limite apical no sucesso da terapia endodôntica em humanos. O autor não encontrou diferença estatisticamente significativa quando o limite apical foi > 2mm e entre 0 e 2 mm aquém do ápice radiográfico, quando não havia lesão periapical prévia ao tratamento. Porém, quando comparou dentes com lesão periapical prévia, os dentes obturados entre 0 e 2 mm aquém do ápice radiográfico tiveram maior índice de sucesso, estatisticamente significativa, quando comparados com os dentes com limite apical da obturação > 2 mm do ápice radiográfico. Desta forma, obturações distantes do ápice radiográfico poderiam permitir a percolação de fluidos dos tecidos periapicais no espaço vazio do terço apical do canal, servindo de nutrientes para a proliferação de eventuais microrganismos residuais.

Por sua vez, Souza et al (2018)⁽²²⁾ avaliaram a influência do limite apical da obturação no reparo de lesões periapicais em humanos. No estudo não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle, com canais obturados a 1 mm aquém do ápice radiográfico da raiz, e o grupo experimental, com limite

apical variando entre 2 e 7 mm aquém do ápice radiográfico. Os autores afirmam que o preparo químico-mecânico do canal radicular parece ser o fator determinante para promover o reparo das lesões periapicais.

A presença da obturação, apesar de não impedir, dificulta a chegada de nutrientes e o crescimento de bactérias no interior do canal^(23, 24). Sendo assim, em canais onde não há infecção endodôntica, como nos casos de polpa viva, ou naqueles em que o preparo químico-mecânico e a limpeza do canal foram capazes de reduzir substancialmente a infecção endodôntica, obturações com limites apicais maiores que 2 mm aquém do ápice radicular radiográfico podem não comprometer o processo de reparo.

Nos casos de sobreobturação, com extravasamento de material obturador para os tecidos periapicais, os índices de sucesso são inferiores⁽¹⁷⁾. Nair (2004)⁽²⁰⁾ e Ricucci et al. (1998)⁽⁴⁾ apontam maiores índices de sucesso quando o material obturador fica restrito ao interior do canal radicular, evitando desta forma reações de corpo estranho dos tecidos periapicais aos materiais obturadores. O artigo analisado neste estudo corrobora este achado⁽¹⁸⁾.

Nesta revisão foram selecionados três artigos que avaliaram a influência da composição do cimento endodôntico no reparo da periodontite apical em animais⁽²⁵⁻²⁷⁾.

Gomes-Filho et al. (2013)⁽²⁵⁾ verificou que o uso de cimentos com atividade antibacteriana, como o MTA Fillapex, Endo-CPM-Sealer e Sealapex, não foi capaz de eliminar os microorganismos residuais do canal e promover o reparo completo das lesões periapicais. A ação antimicrobiana dos cimentos endodônticos à base de hidróxido de cálcio e MTA deve-se à liberação de íons hidroxila para o meio, resultando no aumento do pH tecidual. O ambiente alcalino interfere no metabolismo bacteriano, comprometendo a sua sobrevivência^(11,24).

Porém, alguns autores questionam a efetividade da ação antibacteriana destes cimentos à longo prazo⁽²⁸⁻³⁰⁾. Morgental et al. (2011)⁽³¹⁾ afirma que apesar do alto pH, o MTA Fillapex não foi capaz de manter sua atividade antibacteriana após 07 dias

após a presa. O autor ainda afirma que o Endo-CPM-Sealer, não possuiu atividade antimicrobiana nem antes nem após a presa do cimento. Kuga et al. (2013)⁽¹²⁾ demonstram in-vitro que o Sealapex proporcionou pH mais elevado que o MTA Fillapex, porém a atividade antimicrobiana entre eles não diferiu.

Estes estudos podem explicar os achados de Gomes-Filho et al. (2013)⁽²⁵⁾, que observaram bactérias remanescentes em canais obturados com MTA Fillapex, Endo-CPM-Sealer e Sealapex. Holland et al. (2017)⁽³²⁾ afirmam que para que ocorra o processo de reparo dos tecidos periapicais, o fator mais importante é a ausência de infecção e de materiais obturadores na intimidade dos tecidos perirradiculares.

O Sealapex possui atividade antimicrobiana, ação mineralizadora e é biocompatível⁽³³⁾. Tanomaru Filho et al. (1998)⁽³⁴⁾ encontraram melhor reparo periapical quando foi utilizado o Sealapex na obturação radicular em dentes de cães. O AH Plus e o Sealer 26 também são considerados cimentos com baixa citotoxicidade⁽³⁵⁾. Por esta razão observou-se, nos outros artigos selecionados neste estudo, melhores resultados na reparação periapical quando estes cimentos foram utilizados^(26,27). O paraformaldeído, contido no Endometasone, é considerado um irritante tecidual⁽³⁶⁾, o que pode explicar os resultados insatisfatórios observados por Borlina et al (2010)⁽²⁶⁾. Perassi et al. (2004)⁽³⁷⁾ afirmam que o Endomethasone é citotóxico, e observou, em um estudo em ratos, que este cimento induziu maior liberação de TNF- α quando comparado ao Sealapex.

Um estudo selecionado nesta revisão avaliou a importância do selamento proporcionado pela obturação radicular para o reparo da periodontite apical. Para Sabeti et al. (2006)⁽³⁸⁾, o reparo da periodontite apical ocorreu independentemente da presença ou não da obturação. Burkovski et al. (2018)⁽³⁹⁾ afirmam que a presença da obturação radicular é questionável, pois esta é incapaz de selar o sistema de canais na ausência de uma restauração coronária adequada.

Nesta revisão sistemática não foram encontrados estudos em animais que avaliassem outros aspectos referentes à obturação, como conicidade, homogeneidade e presença de espaços vazios, com o reparo da periodontite apical.

Por esta razão, este estudo foi mais direcionado para questões como limite apical, tipo de cimento e selamento.

5 CONCLUSÃO

Através da análise dos artigos incluídos nesta revisão sistemática da literatura, pode-se concluir que a obturação do canal radicular pode influenciar o reparo da periodontite apical em animais, a depender da carga microbiana residual após o preparo químico-mecânico. Dentre os parâmetros avaliados, o limite apical da obturação influenciou o reparo quando havia presença de bactérias remanescentes no interior do canal. Diante de efetivo controle de infecção, o limite apical da obturação e o selamento proporcionado por esta pareceram não interferir no reparo das lesões periapicais. Em relação às características do cimento endodôntico utilizado, a obturação com Sealapex (cimento à base de hidróxido de cálcio), AH Plus e Sealer 26 (cimentos à base de resina epóxica), pareceu favorecer o processo de reparo periapical. Os cimentos MTA Fillapex, Endo-CPM-Sealer e Sealapex, a despeito das propriedades antimicrobianas que lhes são atribuídas, não foram efetivos na eliminação de bactérias residuais do canal radicular e não proporcionaram a reparação completa da periodontite apical.

REFERÊNCIAS

1. Craveiro MA, Fontana CE, de Martin AS, Bueno CE. Influence of coronal restoration and root canal filling quality on periapical status: clinical and radiographic evaluation. *J Endod*. 2015 Jun;41(6):836-40.
2. Jersa I, Kundzina R. Periapical status and quality of root fillings in a selected adult Riga population. *Stomatologija*. 2013;15(3):73-7.
3. Chala S, Abouqal R, Abdallaoui F. Prevalence of apical periodontitis and factors associated with the periradicular status. *Acta Odontol Scand*. 2011 Nov;69(6):355-9.
4. Santos SM, Soares JA, Costa GM, Brito-Júnior M, Moreira AN, de Magalhães CS. Radiographic parameters of quality of root canal fillings and periapical status: a retrospective cohort study. *J Endod*. 2010 Dec;36(12):1932-7.
5. Ricucci D, Langeland K. Apical limit of root canal instrumentation and obturation, part 2. A histological study. *Int Endod J*. 1998; 31(6):394-409.
6. Eckerbom M, Magnusson T. Evaluation of technical quality of endodontic treatment-reliability of intraoral radiographs. *Endod Dent Traumatol*. 1997 Dec;13(6):259-64.
7. Peciuliene V, Rimkuvienė J, Maneliene R, Ivanauskaite D. Apical periodontitis in root filled teeth associated with the quality of root fillings. *Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal*. 2006;8:122-6.
8. Liang YH, Li G, Shemesh H, Wesselink PR, Wu MK. The association between complete absence of post-treatment periapical lesion and quality of root canal filling. *Clin Oral Investig*. 2012 Dec;16(6):1619-26.
9. Kirkevang LL, Vaeth M, Wenzel A. Ten-year follow-up of root filled teeth: a radiographic study of a Danish population. *Int Endod J*. 2014 Oct;47(10):980-8.
10. El Merini H, Amarir H, Lamzawaq A, Hamza M. Periapical Status and Quality of Root Canal Fillings in a Moroccan Subpopulation. *International Journal of Dentistry*. 2017 Jun;(7-8):1-5.
11. Desai S, Chandler N. Calcium hydroxide-based root canal sealers: a review. *J Endod*. 2009 Apr;35(4):475-80.
12. Kuga MC, Faria G, Weckwerth PH, Duarte MAH, Campos EA, Só MVR, et al. Evaluation of the pH, calcium release and antibacterial activity of MTA Fillapex. *Rev Odontol UNESP*. 2013 Oct;42(5):330-335.
13. López FU, Kopper PM, Cucco C, Della Bona A, de Figueiredo JA, Vier-Pelisser FV. Accuracy of cone-beam computed tomography and periapical radiography in apical periodontitis diagnosis. *J Endod*. 2014 Dec;40(12):2057-60.

14. Moura MS, Guedes OA, Alencar AHG, Azevedo B, Estrela C. Influence of length of root canal obturation on apical periodontitis detected by periapical radiography and cone beam computed tomography. *J Endod.* 2009;35:805-809.
15. Dutra LK, Haas L, Porporatti AL, Flores-Mir C, Nascimento Santos J, Mezzomo LA, et al. Diagnostic Accuracy of Cone-beam Computed Tomography and Conventional Radiography on Apical Periodontitis: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Endod.* 2016 Mar;42(3):356-64.
16. Paula-Silva FW, Wu MK, Leonardo MR, da Silva LA, Wesselink PR. Accuracy of periapical radiography and cone-beam computed tomography scans in diagnosing apical periodontitis using histopathological findings as a gold standard. *J Endod.* 2009 Jul; 35(7):1009-12.
17. Schaeffer MA, White RR, Walton RE. Determining the optimal obturation length: a meta-analysis of literature. *J Endod.* 2005;31:271-274.
18. Fabricius L, Dahlén G, Sundqvist G, Happonen RP, Möller AJ. Influence of residual bacteria on periapical tissue healing after chemomechanical treatment and root filling of experimentally infected monkey teeth. *Eur J Oral Sci.* 2006 Aug;114(4):278-85.
19. Chandra A. Discuss the factors that affect the outcome of endodontic treatment. *Aust Endod J.* 2009 Aug;35(2):98-107.
20. Nair PN. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15(6):348-381.
21. Ng Y-L, Mann V, Rahbaran S, Lewsey J, Gulabivala K. Outcome of primary root canal treatment: systematic review of the literature—part 2. Influence of clinical factors. *Int Endod J.* 2008;41:6–31.
22. Souza RA, Dantas JCP, Colombo S, Lago M, Figueiredo JAP, Pécora JD. Relationship between the apical limit of root canal filling and repair. *Endod Pract,* 2018;21(2):10-23.
23. Souza RA. Análise Crítica do Papel da Obturação no tratamento Endodôntico. *J. Brasileiro de Endodontia.* 2006;6(23):29-39.
24. Tomson RM, Polycarpou N, Tomson PL. Contemporary obturation of the root canal system. *Br Dent J.* 2014 Mar;216(6):315-22.
25. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Cintra LT, Nery MJ, Dezan-Júnior E, Queiroz IO, et al. Effect of MTA-based sealer on the healing of periapical lesions. *J Appl Oral Sci.* 2013;21:235-42.
26. Borlina SC, Souza V, Holland R, Murata SS, Gomes-Filho JE, Dezan Junior E, et al. Influence of apical foramen widening and sealer on the healing of chronic periapical lesions induced in dogs' teeth. *O Surg O Med O Pathol O Radiol and Endod.* 2010;109:932- 940

27. Leonardo MR, Salgado AA, Silva LA, Tanomaru Filho M. Apical and periapical repair of dogs' teeth with periapical lesions after endodontic treatment with different root canal sealers. *Pesqui Odontol Bras*. 2003;17(1):69-74.
28. Pizzo G, Giammanco GM, Cumbo E, Nicolosi G, Gallina G. In vitro antibacterial activity of endodontic sealers. *J Dent*. 2006 Jan;34(1):35-40.
29. AlShwaimi E, Bogari D, Ajaj R, Al-Shahrani S, Almas K, Majeed A. In Vitro Antimicrobial Effectiveness of Root Canal Sealers against *Enterococcus faecalis*: A Systematic Review. *J Endod*. 2016 Nov;42(11):1588-1597.
30. Kapralos V, Koutroulis A, Ørstavik D, Sunde PT, Rukke HV. Antibacterial activity of endodontic sealers against planktonic bacteria and bacteria in biofilms. *J Endod*. 2018 Jan;44(1):149-154.
31. Morgental RD, Vier-Pelisser FV, Oliveira SD, Antunes FC, Cogo DM, Kopper PM. Antibacterial activity of two MTA-based root canal sealers. *Int Endod J*. 2011 Dec;44(12):1128-33.
32. Holland R, Gomes JE Filho, Cintra LTA, Queiroz ÍOA, Estrela C. Factors affecting the periapical healing process of endodontically treated teeth. *J Appl Oral Sci*. 2017 Sep-Oct;25(5):465-476.
33. Mohammadi Z, Karim Soltani M, Shalavi S, Yazdizadeh M, Jafarzadeh M. Calcium hydroxide-based root canal sealers: an updated literature review. *Compend Contin Educ Dent*. 2014 May;35(5):334-9.
34. Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Silva LA, Utrilla LS. Effect of different root canal sealers on periapical repair of teeth with chronic periradicular periodontitis. *Int Endod J*. 1998 Mar;31(2):85-9.
35. Al-Hiyasat AS, Tayyar M, Darmani H. Cytotoxicity evaluation of various resin based root canal sealers. *Int Endod J*. 2010 Feb;43(2):148-53.
36. Suzuki P, Souza Vd, Holland R, Gomes-Filho JE, Murata SS, Dezan Junior E, et al. Tissue reaction to Endométhasone sealer in root canal fillings short of or beyond the apical foramen. *J Appl Oral Sci*. 2011;19:511-6.
37. Perassi FT, Filho IB, Berbert FL, Carlos IZ, de Toledo Leonardo R. Secretion of tumor necrosis factor-alpha by mouse peritoneal macrophages in the presence of dental sealers, sealapex and endomethasone. *J Endod*. 2004 Jul;30(7):534-7.
38. Sabeti MA, Nekofar M, Motahary P, Ghandi M, Simon JH. Healing of apical periodontitis after endodontic treatment with and without obturation in dogs. *J Endod*. 2006;32:628-33.
39. Burkovski A, Karl M. Lack of evidence for the necessity of root canal obturation. *Quintessence Int*. 2018 Nov;8:2-8.

**MINERALIZAÇÕES PULPARES: ANÁLISE MORFOLÓGICA ATRAVÉS
DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E QUANTIFICAÇÃO
QUÍMICA ATRAVÉS DE ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE
RAIOS X**

**PULP MINERALIZATIONS: MORPHOLOGICAL ANALYSIS THROUGH
SCANNING ELECTRON MICROSCOPY AND CHEMICAL QUANTIFICATION
THROUGH ENERGY-DISPERSIVE X-RAY SPECTROSCOPY**

MANUSCRITO II

RESUMO

As mineralizações pulpares são estruturas formadas por tecido duro que se formam na polpa de dentes permanentes e decíduos. Poucos estudos avaliaram a morfologia e a composição química dos nódulos pulpares. Dessa forma, este estudo teve como objetivo analisar morfologicamente as mineralizações pulpares e realizar a sua quantificação química, identificando os principais elementos químicos que os constituem, e correlacionar os resultados com seus possíveis mecanismos de formação. A morfologia das mineralizações foi analisada através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), e a composição química foi determinada pela espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDX). Pode-se observar que estas estruturas variaram consideravelmente de forma, tamanho e topografia. A localização das mineralizações na cavidade pulpar foi o fator que mais interferiu na morfologia das estruturas analisadas. A maior parte das mineralizações encontradas em câmaras pulpares apresentou morfologia nodular enquanto que as situadas nos canais radiculares apresentaram formato difuso, assemelhando-se à anatomia dos canais radiculares. A topografia dos nódulos apresentou relevo heterogêneo, revelando áreas lisas e compactas contrastando com outras acidentadas e porosas. A composição química das mineralizações variou dependendo da localização do nódulo na cavidade pulpar e do relevo da área analisada. As mineralizações radiculares apresentaram teor de cálcio e fósforo consideravelmente menor do que os nódulos coronários. A alta taxa de celularidade da polpa coronária predispõe esta região à mineralizações nodulares ao redor de células lesadas. A presença de feixes vasculares mais calibrosos e maior teor de fibras colágenas na polpa radicular determina um padrão morfológico difuso nesta região.

Palavras-chave: Nódulos pulpares. Mineralizações pulpares. Calcificações da polpa dentária.

ABSTRACT

Pulp mineralizations are hard tissue structures that form in the pulp of permanent and deciduous teeth. Few studies have evaluated the morphology and chemical composition of the pulp stones. Thus, this study aimed to morphologically analyze the pulp mineralizations and perform their chemical quantification, identifying the main chemical elements that constitute them, and correlate the results with their possible mechanisms of formation. The morphology of the mineralizations was analyzed by scanning electron microscopy (SEM), and the chemical composition was determined by energy-dispersive x-ray spectroscopy (EDX). It can be observed that these structures varied considerably in shape, size and topography. The localization of the mineralizations in the pulp cavity was the factor that most affected the morphology of the analyzed structures. Most of the mineralizations found in the pulp chambers presented nodular morphology, while those located in the root canals presented a diffuse shape, resembling the anatomy of the root canals. The topography of the nodules showed heterogeneous relief, revealing smooth and compact areas contrasting with the rugged and porous ones. The chemical composition of the mineralizations varied depending on the location of the nodule in the pulp cavity and the relief of the analyzed area. Root mineralizations presented considerably lower calcium and phosphorus content than coronary nodules. The high cellularity rate of the coronary pulp predisposes this region to nodular mineralizations around injured cells. The presence of larger caliber vascular bundles and higher collagen fiber content in the root pulp determines a diffuse morphological pattern in this region.

Key-words: Pulp Stones. Pulp mineralizations. Dental pulp calcifications.

1 INTRODUÇÃO

As mineralizações pulpares são estruturas constituídas por tecido duro que se formam no tecido conjuntivo pulpar de dentes permanentes e decíduos. Estas estruturas são consideradas mineralizações ectópicas e são rotineiramente visualizadas em radiografias intraorais como massas radiopacas no interior da cavidade pulpar. Os estudos de prevalência indicam uma média em torno de 36,53%. Normalmente, os molares permanentes são os dentes mais acometidos por este processo^(1,3).

Os fatores etiológicos das mineralizações pulpares ainda são bastante discutidos na literatura, porém há um consenso de que estímulos de longa duração e baixa intensidade sobre a polpa dentária propiciem a sua formação e desenvolvimento. Diversas condições têm sido associadas aos dentes com mineralizações pulpares, tais como avanço da idade, oclusão traumática, desgastes dentários, tratamento ortodôntico, doença periodontal, lesões de cárie crônicas, restaurações profundas, fatores genéticos e idiopáticos^(4,6).

As mineralizações pulpares podem variar consideravelmente em relação à sua morfologia, estrutura e dimensão, sendo a sua localização na cavidade pulpar um fator que interfere nestes aspectos⁽⁷⁾. Na câmara pulpar estas estruturas apresentam, na grande maioria das vezes, formato nodular (esférico ou ovóide). Em algumas situações a morfologia pode se assemelhar à anatomia da porção coronária da cavidade pulpar. Nos canais radiculares, as estruturas geralmente se apresentam com morfologia difusa, como corpos cilíndricos ou tubulares que seguem a configuração do conduto. Em relação ao tamanho, pode-se encontrar desde corpos microscópicos, que não são detectados radiograficamente, até mesmo estruturas mineralizadas que ocupam a quase totalidade da câmara pulpar⁽⁸⁾. As estruturas apresentam morfologia ainda mais heterogênea e complexa quando analisadas em maiores aumentos. A topografia varia desde superfícies lisas e compactas até porções porosas e altamente irregulares, com cristas e depressões⁽⁹⁾.

O termo “nódulo pulpar” tem sido empregado vastamente na literatura para designar as mineralizações que ocorrem no tecido conjuntivo pulpar. Portanto, neste estudo,

será utilizado esse termo já estabelecido, mesmo que nem todos os corpos mineralizados possuam formato nodular.

Estruturalmente, os nódulos pulparem têm sido classificados como verdadeiros, falsos ou difusos. Os verdadeiros seriam compostos por dentina, possuindo túbulos dentinários no seu interior, e sendo revestidos por odontoblastos. Os nódulos falsos seriam compostos por tecido mineralizado atubular, depositados de forma concêntrica e incremental ao redor de um núcleo iniciador composto de matéria orgânica. Os nódulos difusos não teriam um padrão definido de mineralização, seriam mais irregulares, e ocorreriam de forma dispersa na polpa dentária associados aos vasos sanguíneos e estruturas fibrilares^(10,11).

Os nódulos podem ainda ser classificados, de acordo com a sua relação com as paredes da cavidade pulpar, em livres, aderidos e inclusos. Os nódulos livres não possuem contato com o tecido dentinário, estando individualizado na intimidade do conjuntivo pulpar. Os nódulos aderidos estão em íntimo contato com as paredes da cavidade pulpar, enquanto os inclusos são incorporados a massa dentinária durante o processo de dentinogênese⁽¹⁾.

A composição química destas mineralizações tem sido pouco relatada em pesquisas. Alguns estudos tem descrito um predomínio de cálcio e fósforo, em uma proporção semelhante à da hidroxiapatita. Outros elementos como zinco, magnésio, sódio e cobre também foram encontrados na composição química dos nódulos^(12,13).

Vários autores investigaram a associação entre a presença de mineralizações pulparem com condições sistêmicas que também apresentam mineralização ectópica de tecidos conjuntivos, como a nefrolitíase e a aterosclerose⁽¹⁴⁻¹⁷⁾. Estudos sugerem que a patogênese de mineralizações ectópicas possua aspectos semelhantes ao processo fisiológico de mineralização dos tecidos duros^(18,19).

A relevância clínica das mineralizações pulparem está relacionada com as dificuldades que podem ser encontradas em localizar e acessar os canais radiculares no momento do tratamento endodôntico. Estes obstáculos podem resultar em acidentes e complicações como desvios da trajetória do canal e

perfurações radiculares. Alguns autores sugerem que os nódulos pulpaes, pela proximidade com estruturas nervosas da polpa, podem comprimi-las e conseqüentemente causar quadros álgicos em pacientes^(20,21).

Poucos estudos avaliaram a morfologia, a estrutura microscópica e a composição química dos nódulos pulpaes. Estas características podem fornecer informações sobre os possíveis mecanismos que levam à sua formação, contribuindo para a elucidação dos prováveis fatores etiológicos. Desta forma, este estudo teve como objetivo analisar morfologicamente as mineralizações pulpaes e realizar a sua quantificação química, identificando os principais elementos químicos que os constituem, e correlacionar os resultados com seus possíveis mecanismos de formação.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo, apresentado como uma série de casos, foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), fazendo parte de um projeto guarda-chuva de avaliação microscópica de dentes humanos, sob o protocolo n° 34070.

Para a realização da pesquisa, foram coletados 07 nódulos pulparem de dentes que necessitavam de tratamento endodôntico. Os pacientes foram selecionados aleatoriamente e atendidos em clínica particular por um único profissional experiente. Os espécimes foram encaminhados para o Departamento de Endodontia da Universidade de Lódz, na Polônia, e posteriormente foram gentilmente cedidos para este estudo. No exame imaginológico pré-operatório foi observada a presença dos nódulos pulparem, e então foi planejada a cirurgia de acesso endodôntico de modo a preservar estas estruturas (Fig.1,2).

Figuras 1 e 2 - Radiografias pré-operatórias que evidenciam nódulos pulparem em polpa coronária de molares superiores.



Fonte: Profa. Aleksandra Palatynska-Ulatowska.

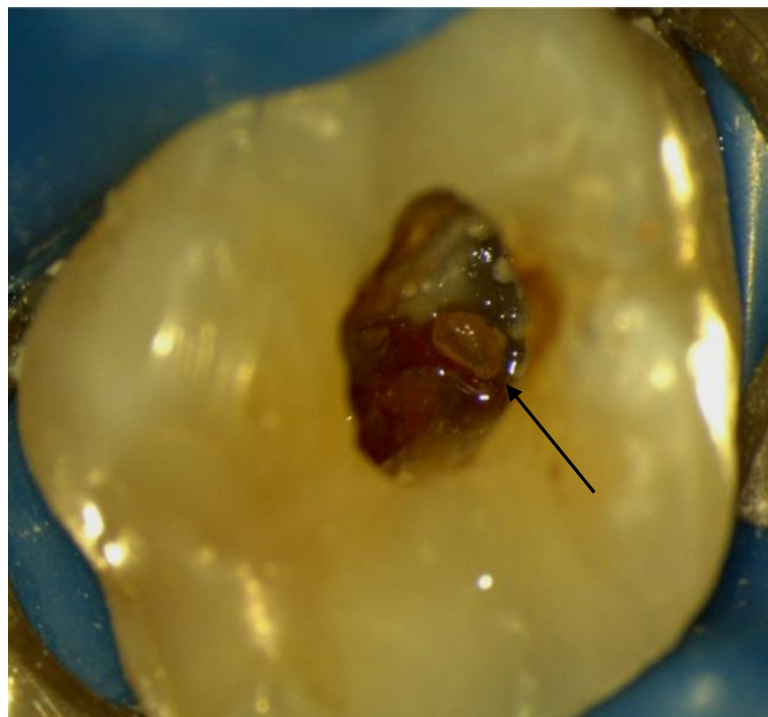
O processo de coleta dos nódulos seguiu o mesmo protocolo clínico. Inicialmente os pacientes foram anestesiados (lidocaína 2% 1:100.000), independente do estado clínico da polpa, viva ou necrosada, e em seguida foi realizado o isolamento absoluto da unidade a ser tratada. Posteriormente foi feita a remoção de todo tecido cariado e de restaurações localizadas nas margens perdidas, seguida de cuidadosa abertura coronária utilizando microscópio clínico (Global, St. Louis, USA) para

visualização do processo operatório. O uso da magnificação neste processo permitiu a manutenção da integridade dos nódulos pulpaes. O acesso foi realizado com pontas diamantadas esféricas e tronco-cônicas em alta-rotação, dependendo do dente e da condição coronária, sob refrigeração com *spray* ar-água, evitando repercussão do calor nas amostras coletadas.

A cavidade de acesso foi irrigada abundantemente com hipoclorito de sódio a 2,5% para dissolver o tecido conjuntivo frouxo pulpar, vivo ou necrosado, e removê-lo junto com as raspas de dentina geradas no processo de abertura, facilitando assim a visualização dos nódulos pulpaes.

Quando presentes na câmara pulpar, os nódulos foram retirados com auxílio de uma cureta de dentina afiada e cuidadosamente deslocados para preservar a integridade da estrutura (Fig.3). Porém, alguns nódulos estavam aderidos à parede da cavidade pulpar e precisaram ser fraturados para a sua remoção. Outros foram fragmentados para a sua remoção em razão da sua dimensão e impossibilidade de serem retirados íntegros pela cavidade de acesso (Fig. 4, 5).

Figura 3 - Nódulo pulpar no interior da cavidade



Fonte: Profa. Aleksandra Palatynska-Ulatowska.

Figura 4 - Nódulo pulpar difuso no interior da cavidade



Fonte: Profa. Aleksandra Palatynska-Ulatowska.

Figura 5 - Nódulo pulpar coronário difuso fragmentado em duas partes.



Fonte: Profa. Aleksandra Palatynska-Ulatowska.

Os nódulos localizados no canal radicular foram removidos com auxílio de lima tipo K de pequeno calibre, nº #08 ou #10, tendo-se o cuidado para não realizar movimentos de limagem, apenas deslocando lentamente até que o mesmo saísse do canal radicular naturalmente, ou que estivesse ao alcance da cureta afiada. Após a remoção dos nódulos, o tratamento endodôntico seguiu o protocolo apropriado para cada dente.

Após a coleta, os nódulos foram armazenados em água destilada, renovada a cada 24 horas, e encaminhados para o processamento histológico em microscopia eletrônica de varredura, no Centro de Microscopia Eletrônica da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS. As peças foram desidratadas numa seqüência ascendente de alcoóis, coladas em *stubs* e metalizados com ouro paládio. As aquisições foram realizadas no microscópio Philips XL 30, operando a 15 Kv. Os aumentos variaram de 30x até 50.000x. O avaliador, com longa experiência em amostras dentárias, percorria toda a área de mineralização para a escolha das áreas representativa da amostra.

Foi realizada também a quantificação química das amostras através da espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDX). O equipamento para análise em EDX é acoplado ao microscópio eletrônico de varredura, e após emitir a radiação X sobre a área desejada, o detector converteu a energia recebida em sinais de voltagem e os espectros foram gerados. Para tal, as aquisições foram feitas em áreas representativas de porções com topografia lisa e compacta, bem como em regiões com relevo irregular e poroso. Cumpre salientar que essas áreas de escolha também foram aquelas definidas para aquisição das imagens, havendo correspondência da área apresentada em MEV com a quantificação em EDX.

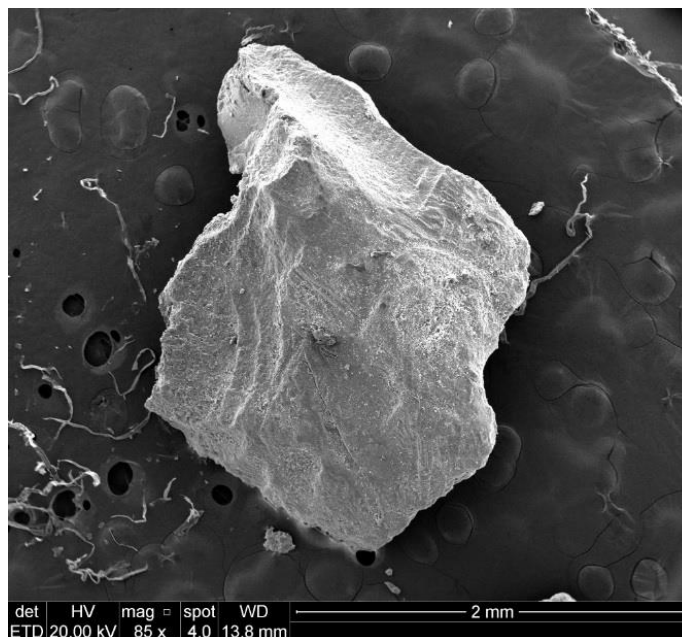
3 RESULTADOS

Foram analisados morfologicamente, através da microscopia eletrônica de varredura em diferentes aumentos, sete nódulos pulpares, sendo cinco localizados na câmara pulpar e dois nos canais radiculares. A quantificação química das amostras em EDX foi realizada em áreas distintas dos nódulos pulpares.

Nódulo 01

Esta estrutura consistiu no menor fragmento de um nódulo difuso localizado na câmara pulpar de um molar inferior, apresentando tamanho de aproximadamente 2,0 mm, formato ovóide e topografia irregular (Fig. 6).

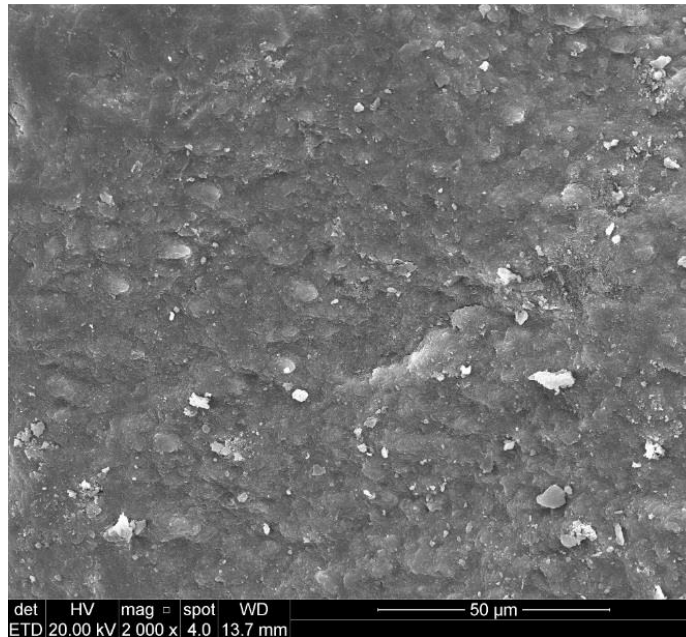
Figura 6 - Fotomicrografia de um fragmento de nódulo coronário difuso (MEV, 85x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo

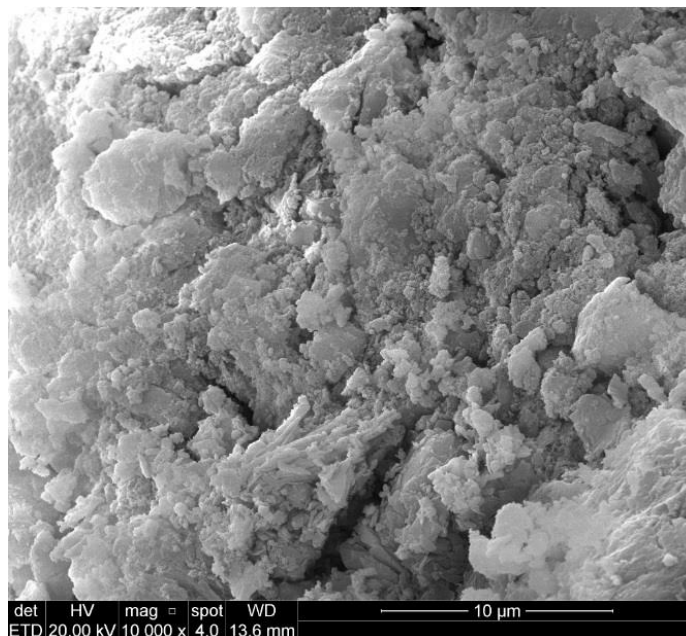
Pode-se notar áreas em que a superfície é lisa e compacta (Fig. 7) e outras em que o relevo é acidentado, poroso, com presença de estruturas cristalinas alongadas e esféricas (Fig. 8).

Figura 7 - Fotomicrografia de superfície compacta e lisa do nódulo 01 (MEV, 2.000x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

Figura 8 - Fotomicrografia de superfície porosa, com relevo acidentado do nódulo 01 (MEV, 10.000x).

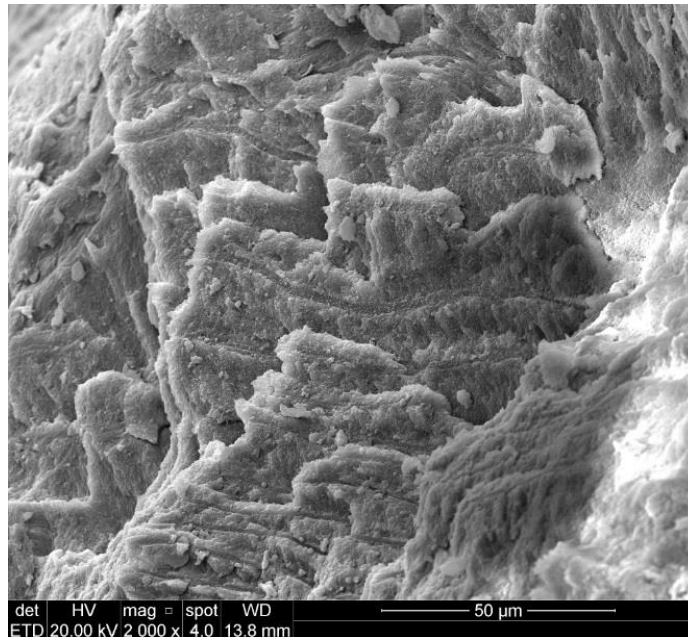


Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

No aumento de 2.000x foi possível visualizar, em uma zona de fratura do fragmento, estruturas tubulares ao longo do nódulo, com orientação regular, alguns paralelos entre si (Fig. 9). No aumento de 20.000x notou-se estrutura tubular medindo

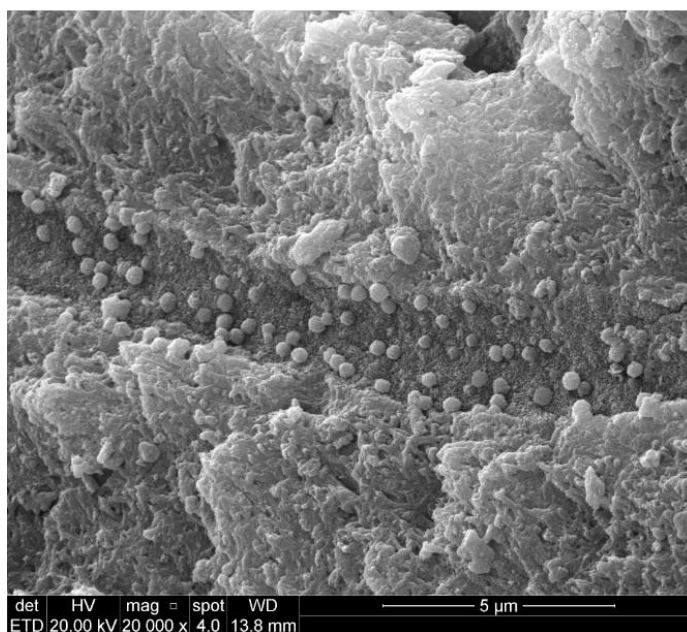
aproximadamente 3,0 μm de diâmetro. Na superfície interna desta estrutura foram observados calcosferitos aderidos à parede que se projetavam para o interior do túbulo (Fig. 10).

Figura 9 - Fotomicrografia de estruturas tubulares em área de fratura do fragmento (MEV, 2.000x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

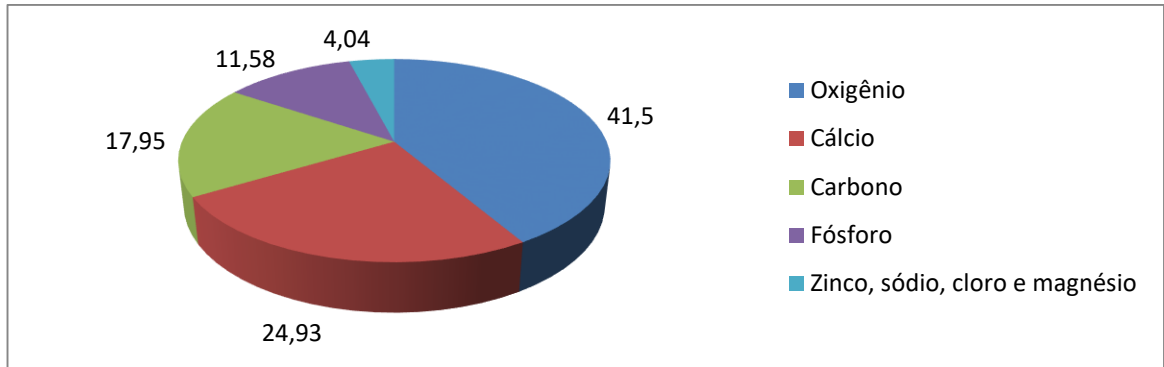
Figura 10 - Fotomicrografia de estrutura tubular com presença de calcosferitos (MEV, 20.000x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

No nódulo 01 a área analisada compreendeu partes lisas e porosas. Verificou-se predomínio dos elementos oxigênio (41.50%), cálcio (24,93%), carbono (17,95%) e fósforo (11,58%). Traços de zinco, sódio, cloro e magnésio foram detectados.

Gráfico 1 - Composição química de área lisa e porosa do nódulo coronário 01.

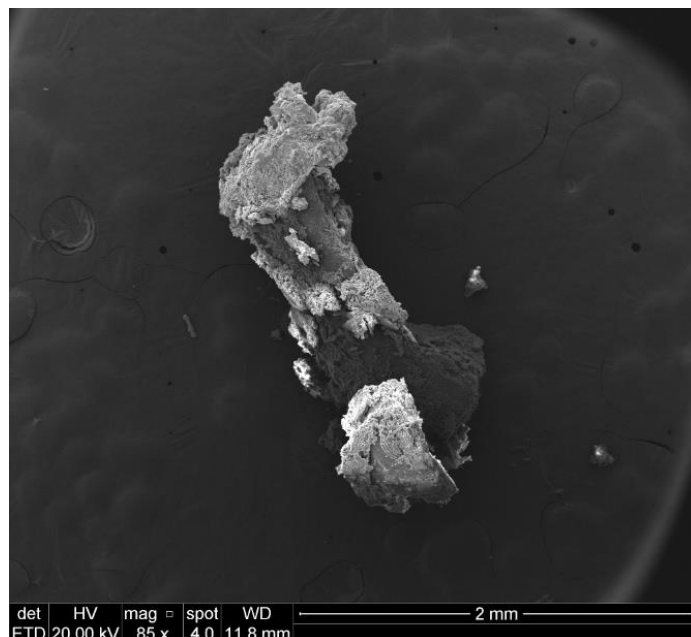


Fonte: próprio autor.

Nódulo 02

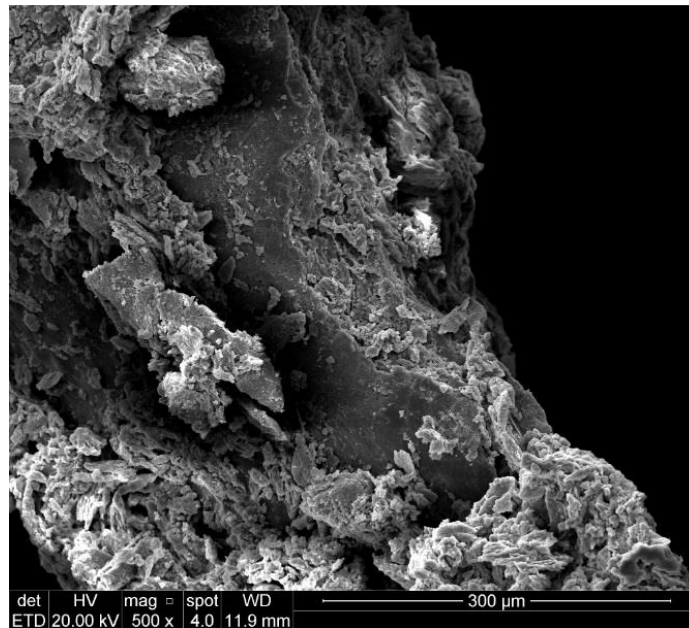
Este nódulo coronário apresentou tamanho de aproximadamente 2,0 x 0,5 mm, formato nodular ovóide alongado e topografia bastante irregular, apresentando poucas zonas de superfície lisa (Fig. 11, 12).

Figura 11 - Fotomicrografia de nódulo coronário ovóide alongado (MEV, 85x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

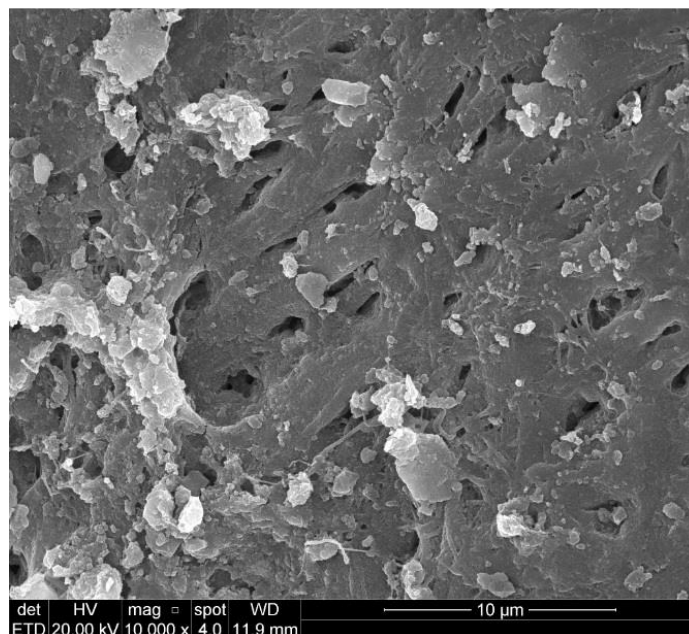
Figura 12 - Fotomicrografia apresentando topografia irregular do nódulo com poucas zonas lisas (MEV, 500x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

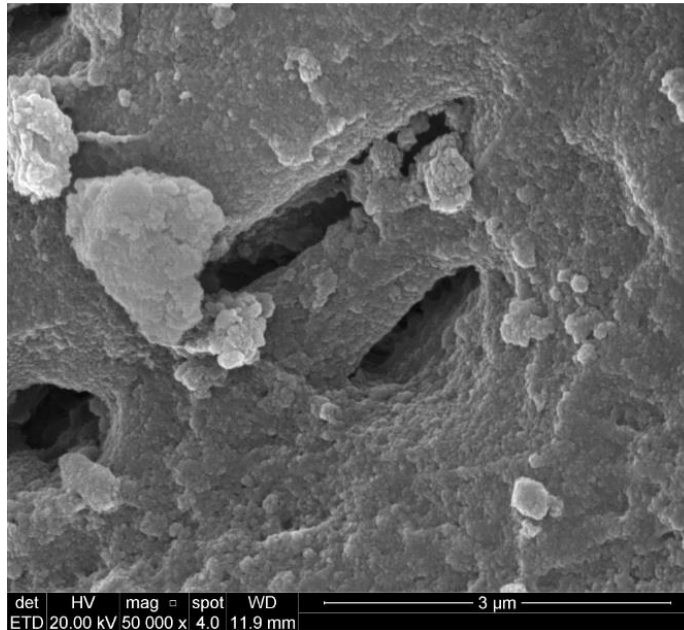
No aumento de 10.000x foi possível notar na superfície mais lisa e compacta, poros com diâmetro de aproximadamente 1,0 a 2,5 μm , que poderiam representar abertura de estruturas tubulares (Fig. 13). No aumento de 50.000x nota-se um padrão de cristalização esférico (Fig. 14).

Figura 13 - Fotomicrografia de superfície lisa com presença de poros (MEV, 10.000x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

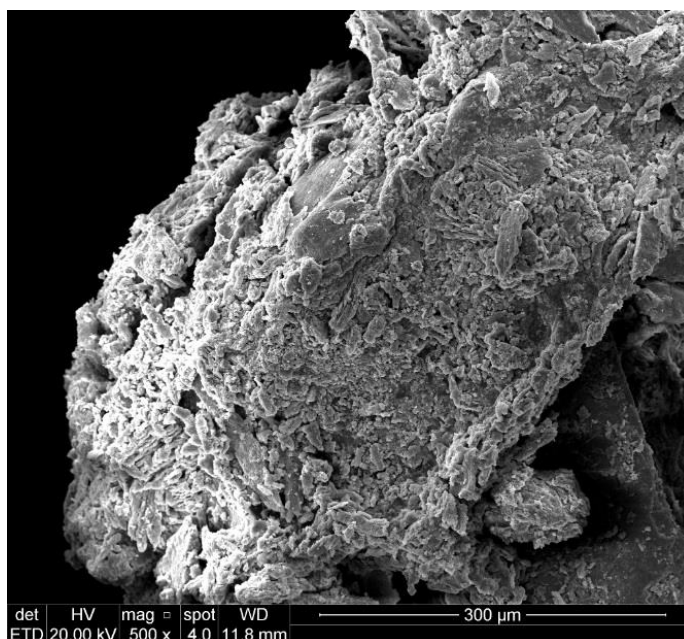
Figura 14 - Fotomicrografia apresentando padrão de cristalização esférico (MEV, 50.000x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

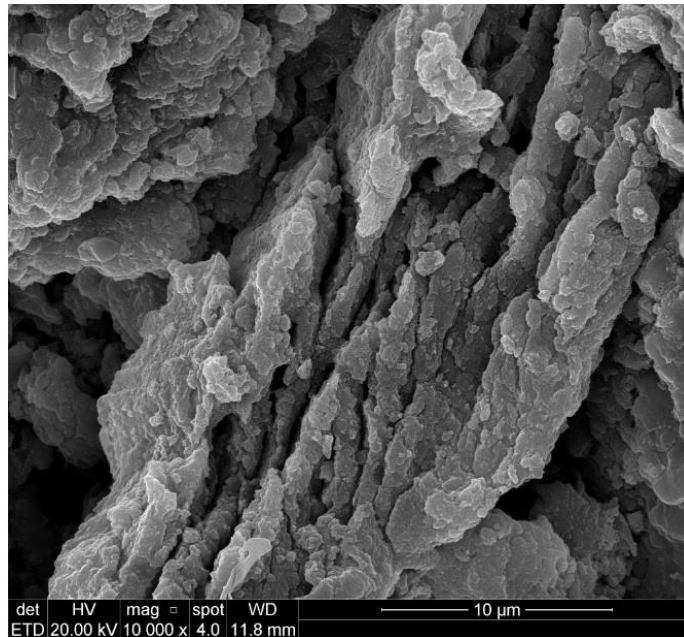
Na superfície das extremidades do nódulo, observou-se topografia bastante irregular com formações cristalinas com cristas e depressões, sem um padrão de organização definido (Fig. 15, 16).

Figura 15 - Fotomicrografia de extremidade do nódulo com relevo bastante irregular (MEV, 500x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

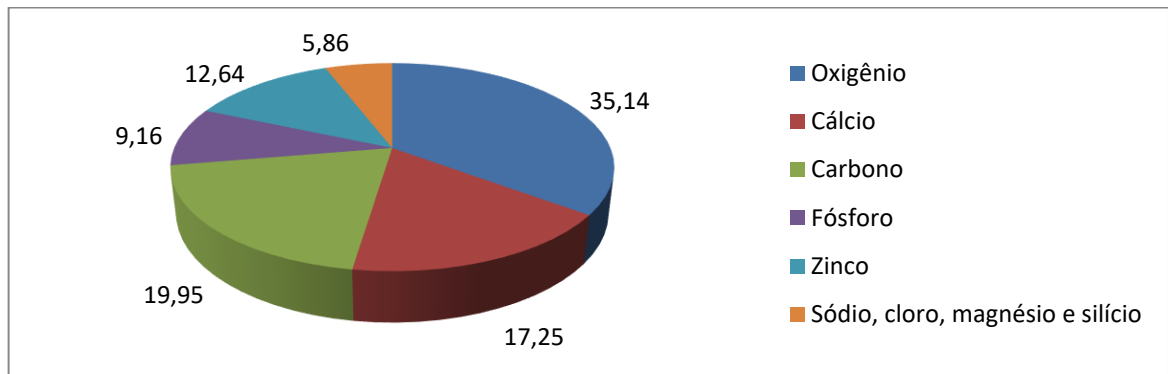
Figura 16 - Fotomicrografia de formações de cristas e depressões (MEV, 10.000x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

No nódulo 02 foi analisada uma região porosa. Os elementos oxigênio (35,14%), carbono (19,95%) e cálcio (17,25%) foram os mais presentes em ordem decrescente. Verificou-se grande quantidade de zinco (12,64%), superando a do elemento fósforo (9,16%). Traços de cloro, sódio, magnésio e silício estavam presentes.

Gráfico 2 - Composição química de área porosa do nódulo coronário 02.

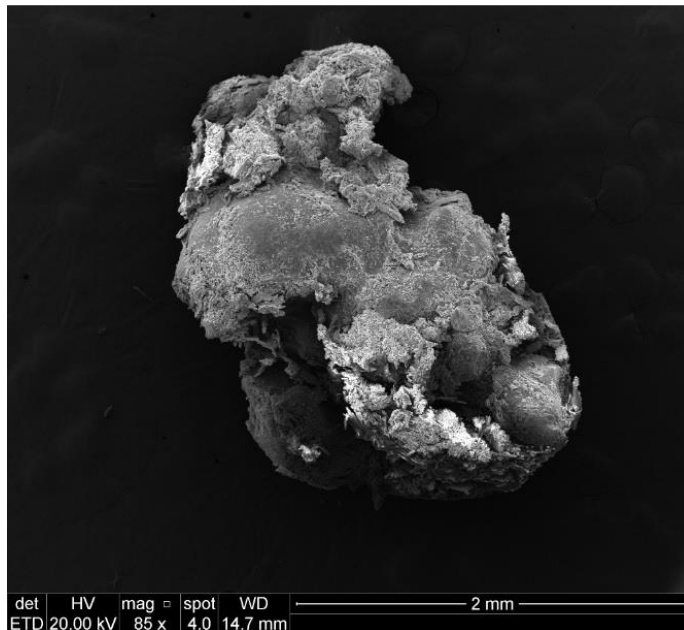


Fonte: próprio autor.

Nódulo 03

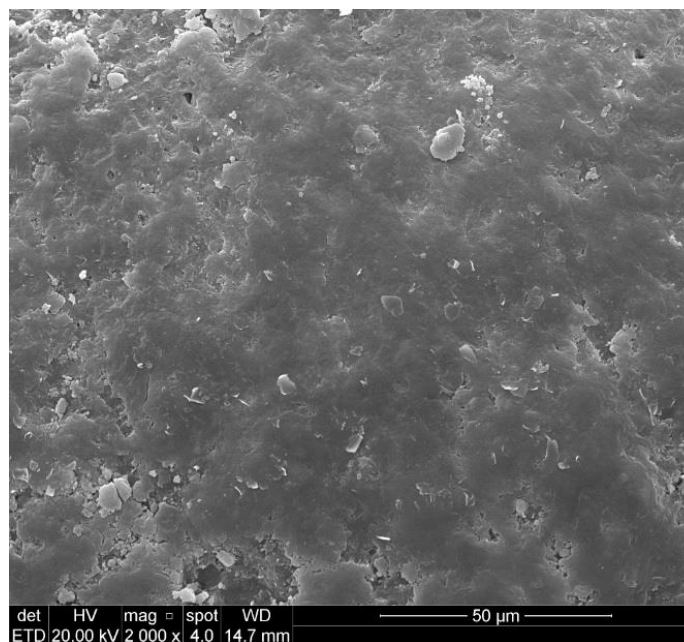
No aumento de 85x, este nódulo coronário apresentou formato nodular ovóide e topografia bastante irregular, medindo aproximadamente 2,0 mm (Fig.17). No aumento de 2.000x notou-se uma área de superfície lisa e compacta (Fig.18).

Figura 17 - Fotomicrografia de nódulo coronário com formato ovóide (MEV, 85x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

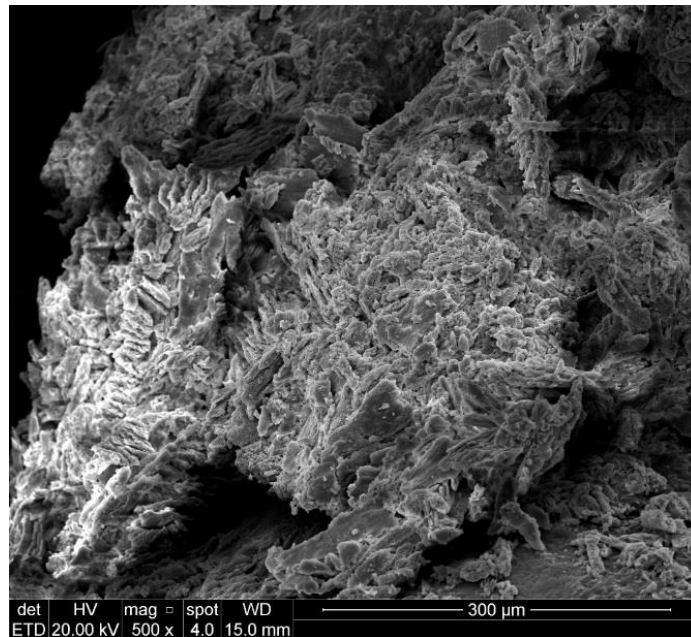
Figura 18 - Fotomicrografia de superfície lisa e compacta (MEV, 2.000x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

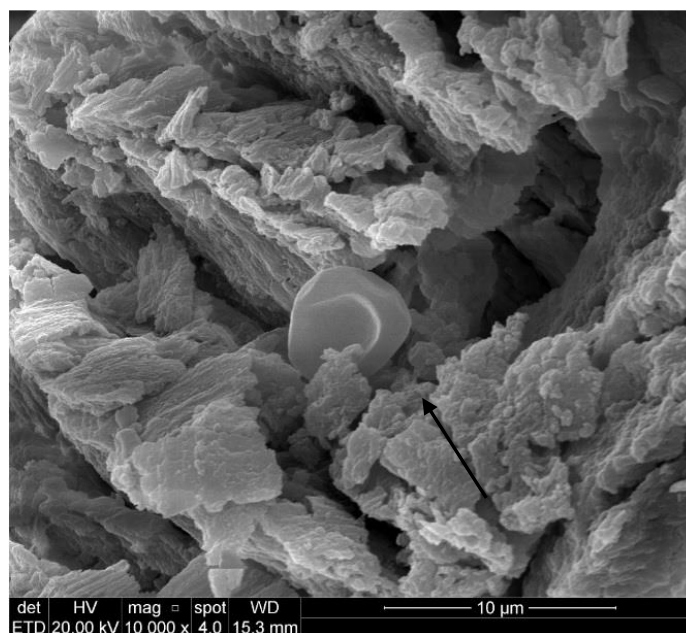
Em outra área do nódulo, o revelo se apresentou bem irregular, acidentado, com um padrão de cristalização desorganizado (Fig. 19). Pode-se observar no aumento de 10.000x a presença de uma hemácia no interior de uma depressão (Fig.20).

Figura 19 - Fotomicrografia apresentando zona porosa com topografia irregular (500x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

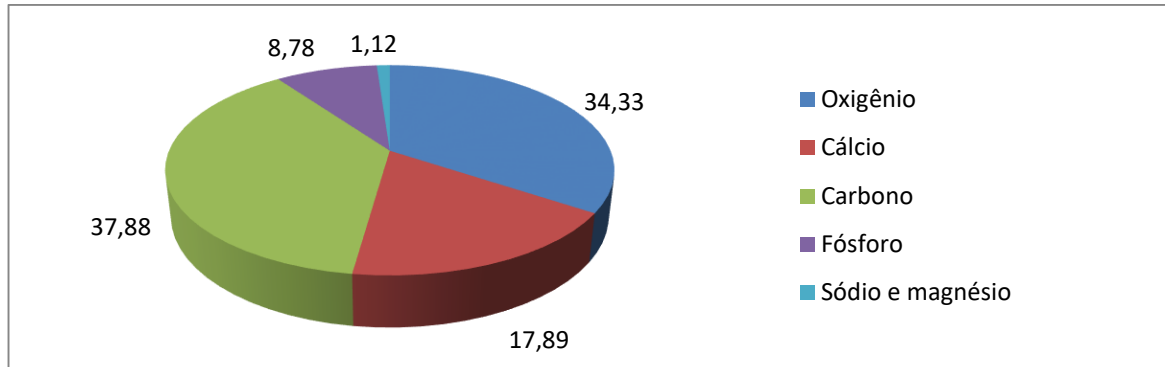
Figura 20 - Fotomicrografia revelando padrão de cristalização desorganizado. Presença de hemácia (seta) (MEV, 10.000x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

No nódulo 03 uma zona lisa e compacta foi avaliada. Os elementos carbono (37,88%) e oxigênio (34,33%) foram predominantes, seguidos de cálcio (17,89%) e fósforo (8,78%). Traços de sódio e magnésio foram detectados.

Gráfico 3 - Composição química de área lisa e compacta do nódulo coronário 03.

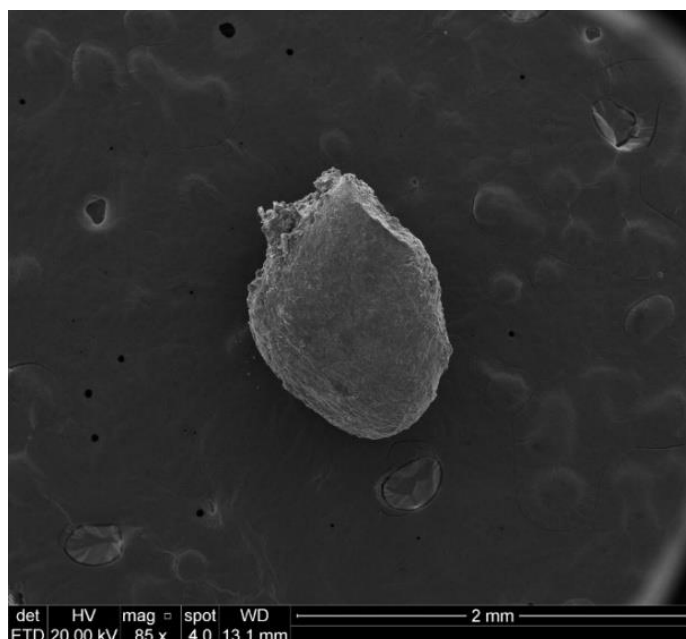


Fonte: próprio autor.

Nódulo 04

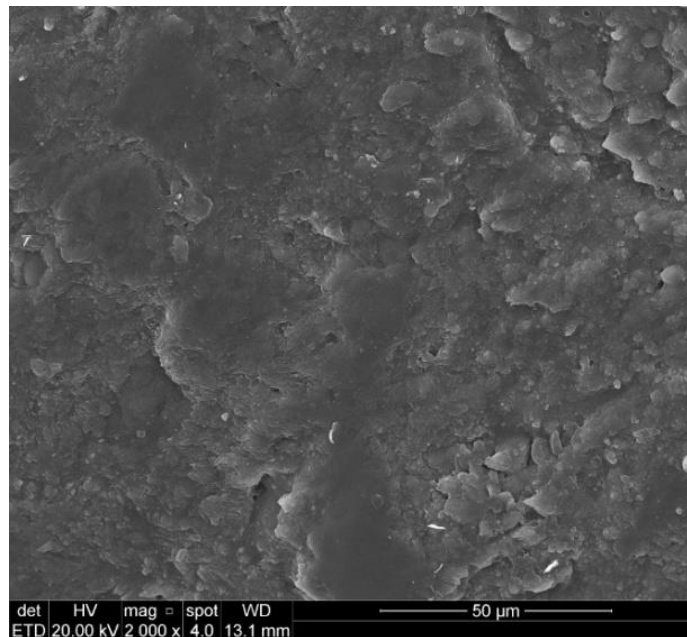
No aumento de 85x, este nódulo coronário apresentou formato nodular ovóide e topografia com aspecto liso e compacto, medindo aproximadamente 1,0 mm (Fig. 21, 22).

Figura 21 - Fotomicrografia de nódulo coronário com formato ovóide (MEV, 85x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

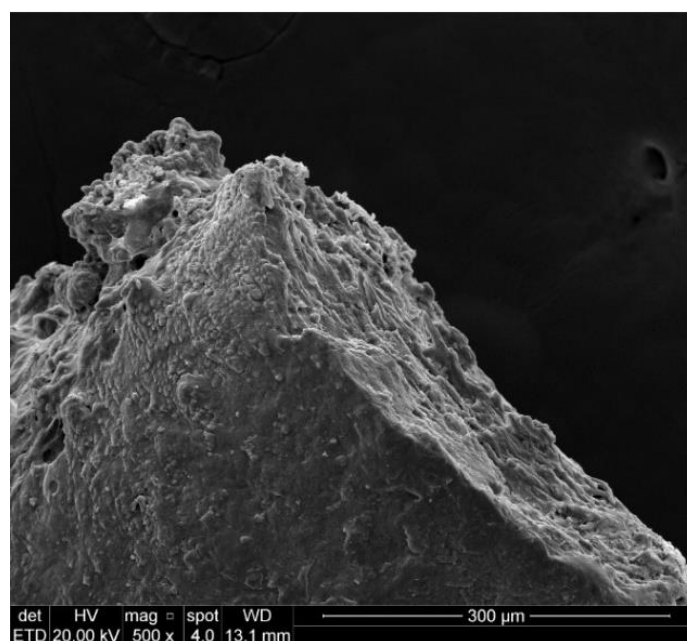
Figura 22 - Fotomicrografia de superfície lisa e compacta (MEV, 2.000x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

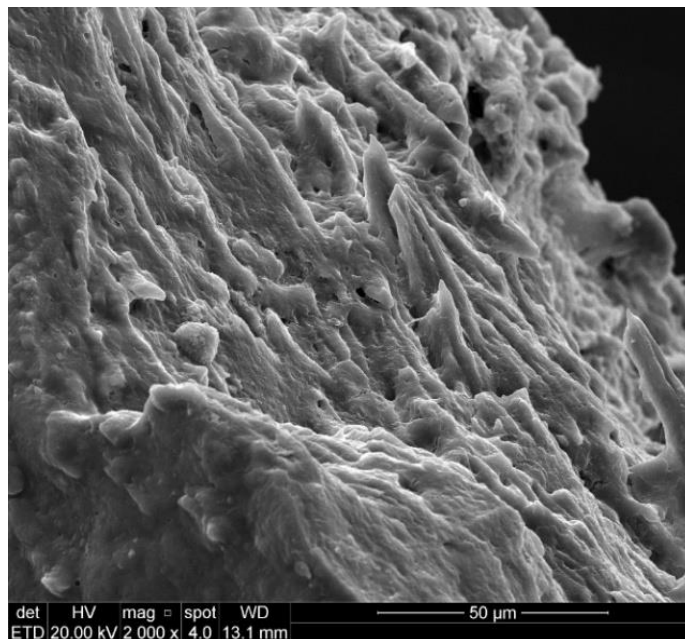
Foi visualizada uma proeminência na anatomia do nódulo, com superfície mais rugosa e um padrão de cristalização irregular (Fig. 23), com projeções em forma de lascas (Fig.24).

Figura 23 - Fotomicrografia de proeminência do nódulo com superfície rugosa (MEV, 500x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

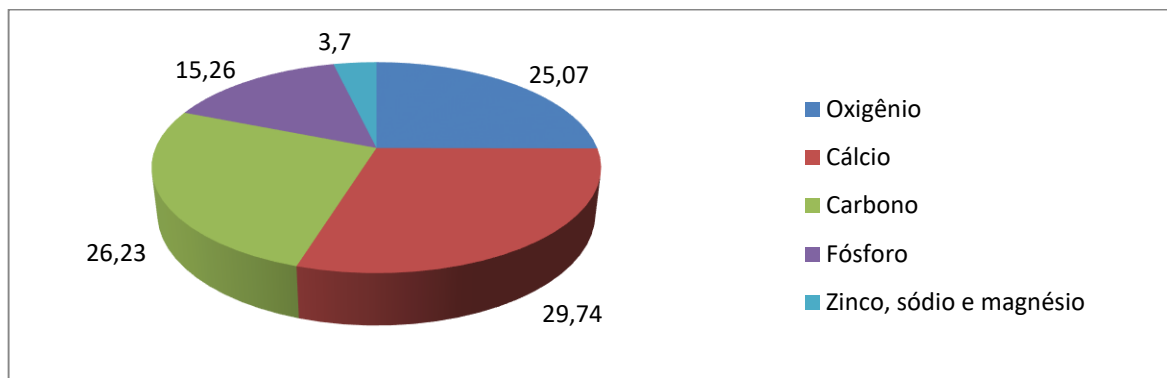
Figura 24 - Fotomicrografia de zona rugosa em maior aumento com projeções em forma de lascas (MEV, 2.000x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

Em uma área lisa do nódulo 04, o elemento cálcio (29,74%) foi o mais presente, seguido de carbono (26,23%), oxigênio (25,07%) e fósforo (15,26%). Zinco, sódio e magnésio foram detectados em proporções mínimas.

Gráfico 4 - Composição química de área lisa e compacta do nódulo coronário 04.



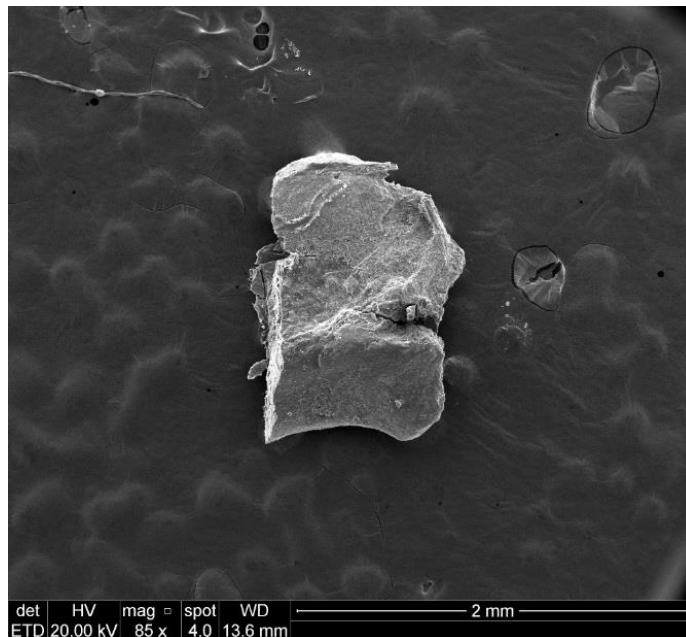
Fonte: próprio autor.

Nódulo 05

O nódulo, removido na câmara pulpar, apresenta formato nodular retangular, medindo aproximadamente 1,0 mm (Fig. 25). A topografia exibiu predomínio de

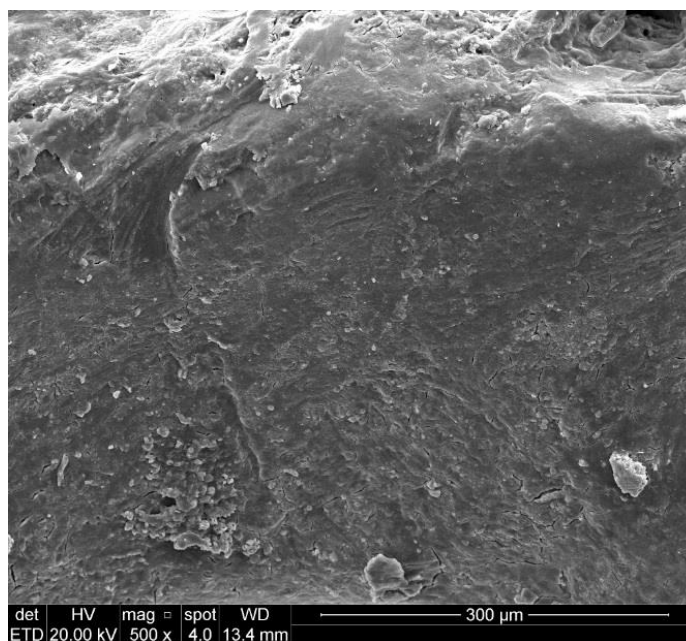
áreas com superfícies lisas e compactas (Fig. 26). Foi observada zona de fratura na borda esquerda da estrutura.

Figura 25 - Fotomicrografia de nódulo coronário com formato retangular (MEV, 85x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

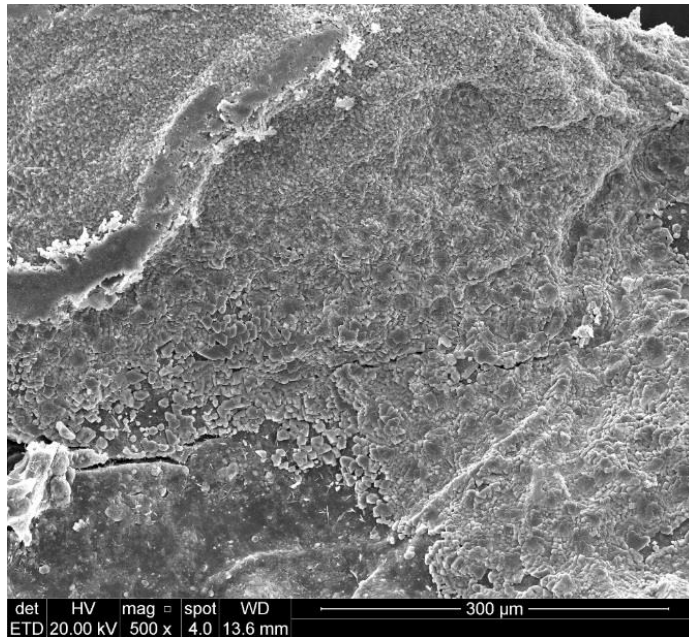
Figura 26 - Fotomicrografia de superfície lisa e compacta (MEV, 500x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

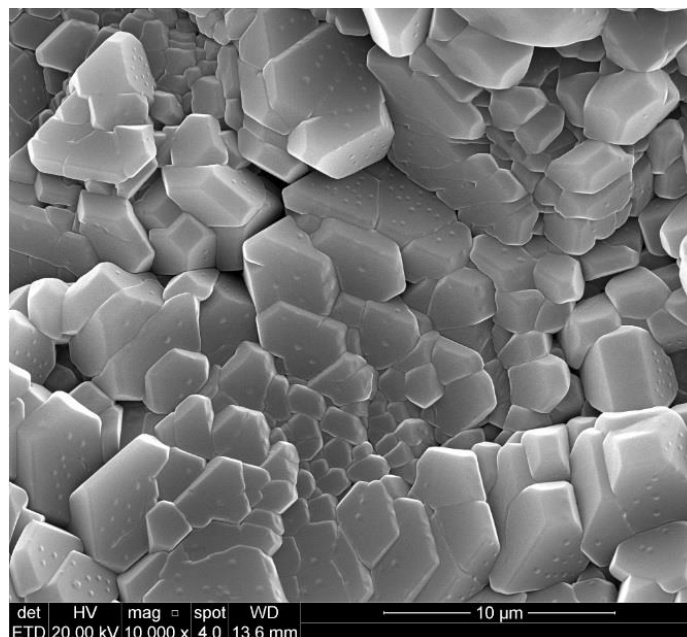
No aumento de 500x notou-se que determinada área da superfície do nódulo encontrava-se coberta por uma camada de substância exógena (Fig. 27). No aumento de 10.000x verifica-se formação cristalina de cloreto de sódio (Fig. 28).

Figura 27 - Fotomicrografia de superfície nodular recoberta com substância exógena (MEV, 500x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

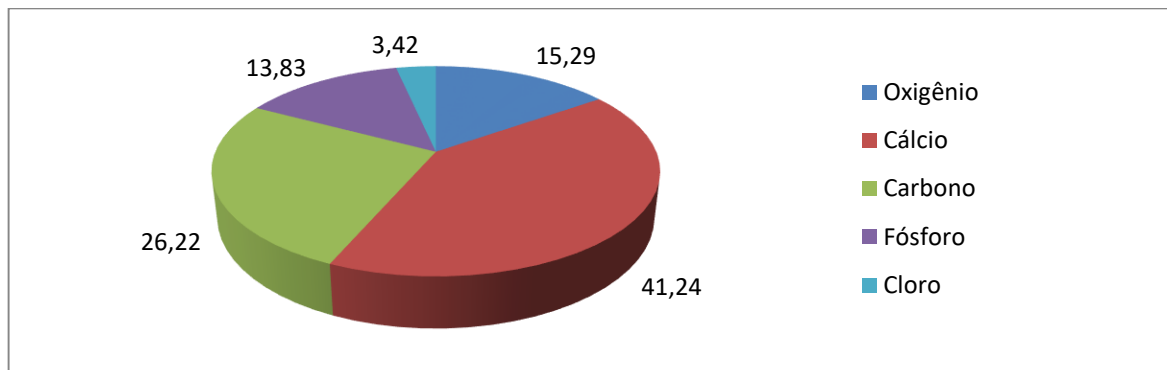
Figura 28 - Fotomicrografia de formações cristalinas de cloreto de sódio (MEV, 10.000x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

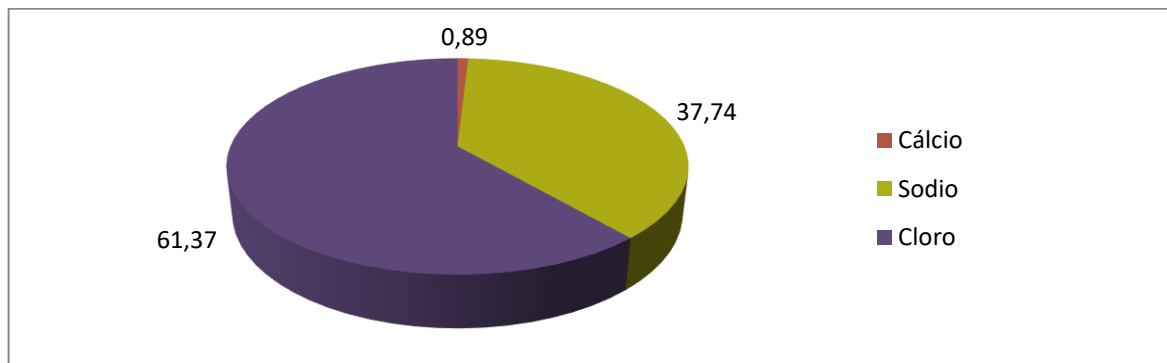
Foram realizadas duas análises no nódulo 05. Uma área lisa apresentou predomínio de cálcio (41,24%), e proporções consideráveis de carbono (26,22%), oxigênio (15,29%) e fósforo (13,83%). Traços de cloro foram observados. Em outra área foi verificada praticamente a presença quase absoluta de cloro (61,37%) e sódio (37,54%), com mínimo traço de cálcio (1,09%).

Gráfico 5 - Composição química de área lisa e compacta do nódulo coronário 05.



Fonte: próprio autor.

Gráfico 6 - Composição química de substância exógena sobre a superfície do nódulo 05.

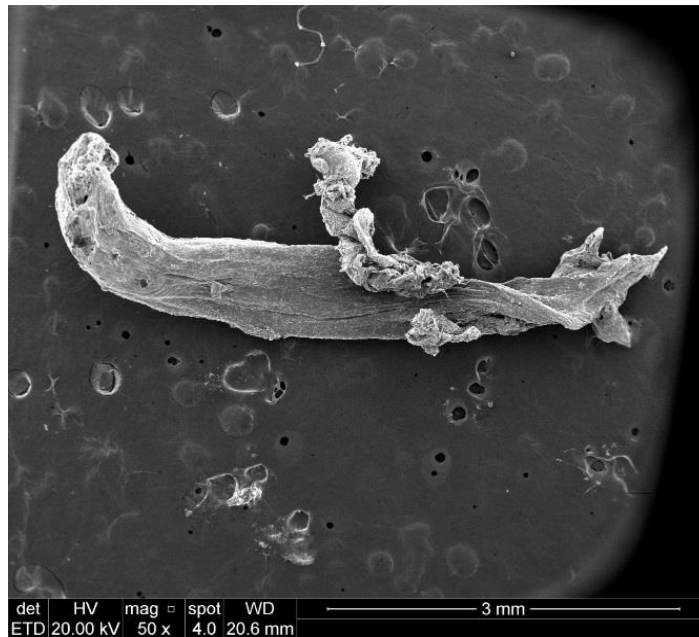


Fonte: próprio autor.

Nódulo 06

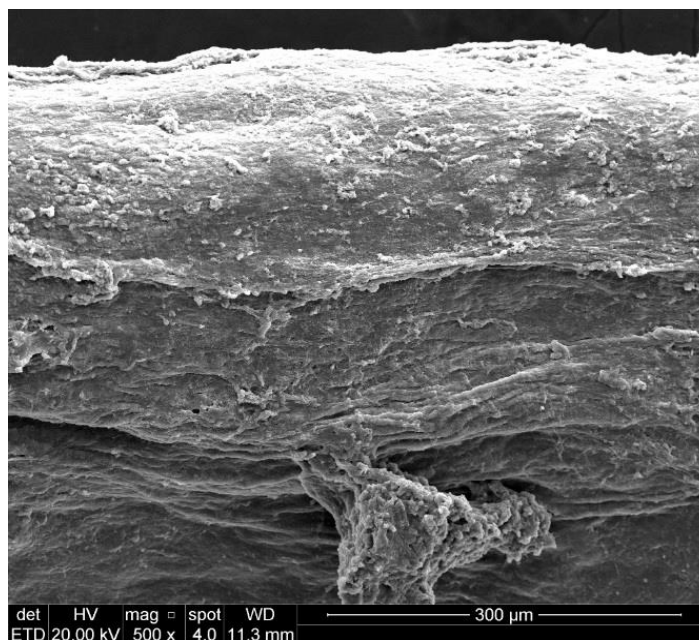
Este nódulo radicular apresentou morfologia difusa cilíndrica alongada, semelhante ao espaço do canal, com comprimento de aproximadamente 4,0 mm (Fig. 29). A topografia do mesmo se mostrou irregular, com áreas sulcadas e trajeto sinuoso. Em algumas áreas o conteúdo encontrava-se enovelado, com uma distribuição aleatória (Fig. 30).

Figura 29 - Fotomicrografia de nódulo radicular com morfologia alongada e tubular (MEV, 50x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

Figura 30 - Fotomicrografia de superfície com áreas sulcadas e trajeto sinuoso (MEV, 500x).

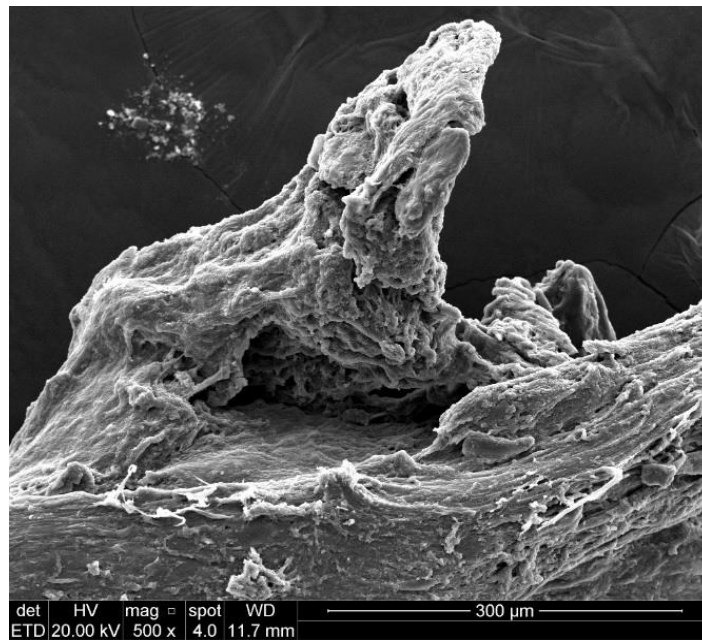


Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

Em outras áreas, observou-se na superfície do nódulo projeções com relevo irregular (Fig. 31). No aumento de 10.000x o padrão de cristalização foi esférico e

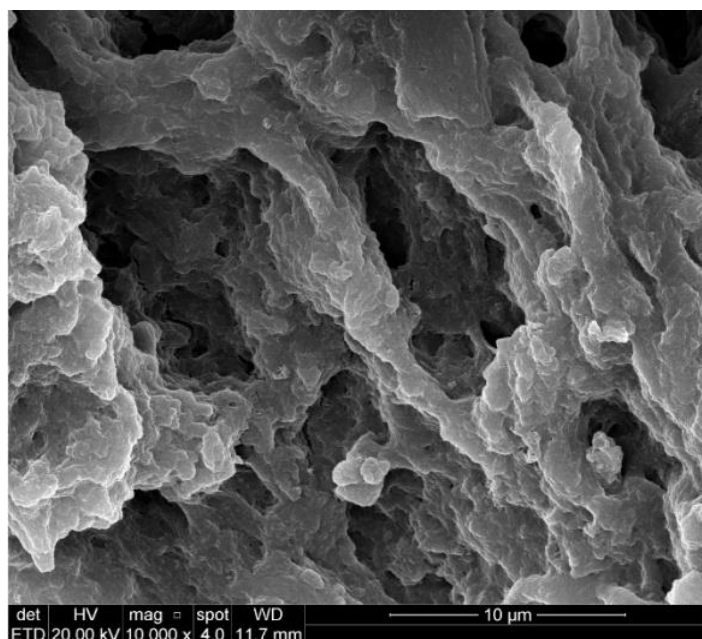
em algumas áreas pode-se notar cristais alongados. Foram visualizadas também áreas com cristas, sulcos e poros aparentemente mais profundos do que aqueles encontrados nos nódulos das câmaras pulpares (Fig. 32).

Figura 31 - Fotomicrografia de superfície com projeções com relevo irregular (MEV, 500x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

Figura 32 - Fotomicrografia revelando presença de cristas e sulcos com poros profundos (MEV, 10.000x).

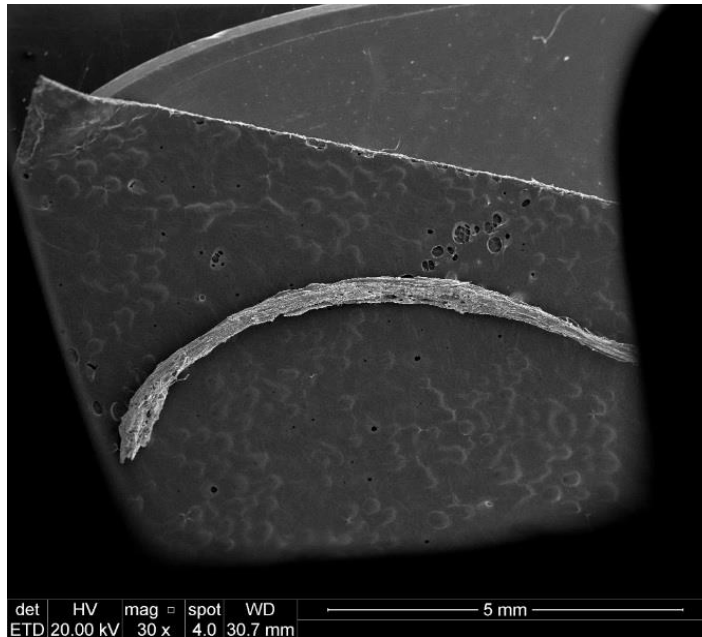


Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

Nódulo 07

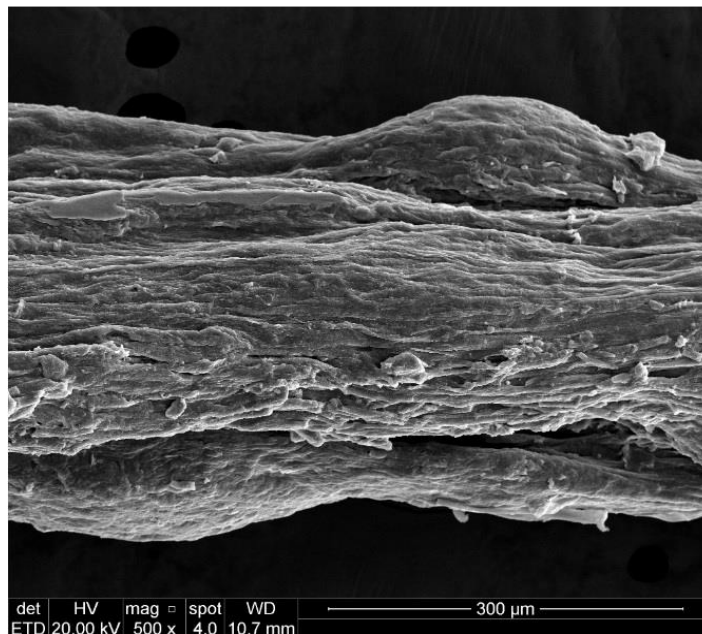
Este nódulo radicular exibiu morfologia difusa cilíndrica, de filete, bastante alongada, correspondendo ao espaço do canal radicular. O comprimento foi de aproximadamente 7,0 mm (Fig.33). A topografia do mesmo se mostrou irregular, com áreas sulcadas, seguindo um trajeto sinuoso, ao longo eixo do nódulo (Fig. 34).

Figura 33 - Fotomicrografia de nódulo radicular com morfologia de filete (MEV, 30x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

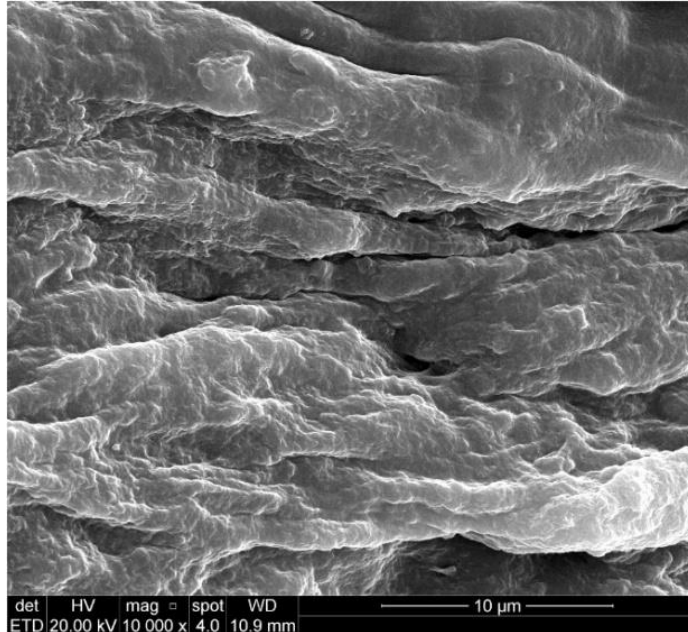
Figura 34 - Fotomicrografia de superfície com áreas sulcadas e trajeto sinuoso (MEV, 500x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

No aumento de 10.000x, a topografia apresentou regiões com padrão de cristalização formando cordões que se fundiram, com reentrâncias profundas (Fig. 35).

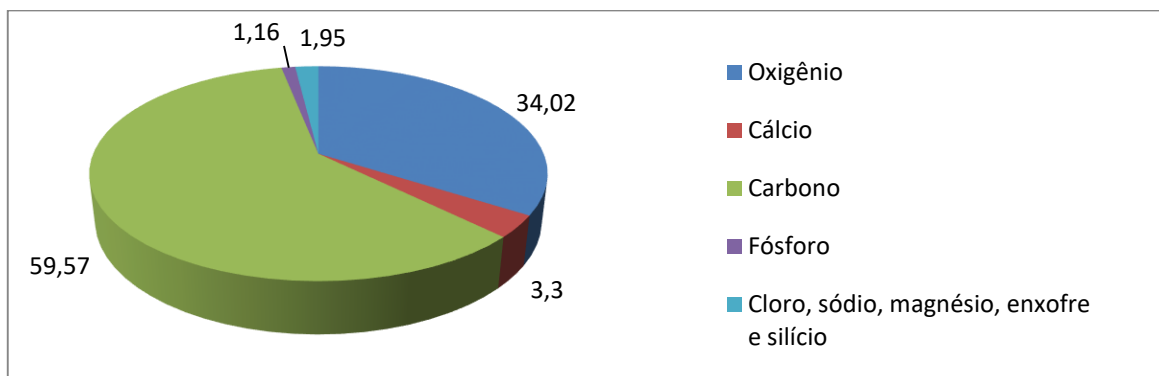
Figura 35 - Fotomicrografia de padrão de cristalização formando cordões, com reentrâncias profundas (MEV, 10.000x).



Fonte: Prof. José Antônio Poli de Figueiredo.

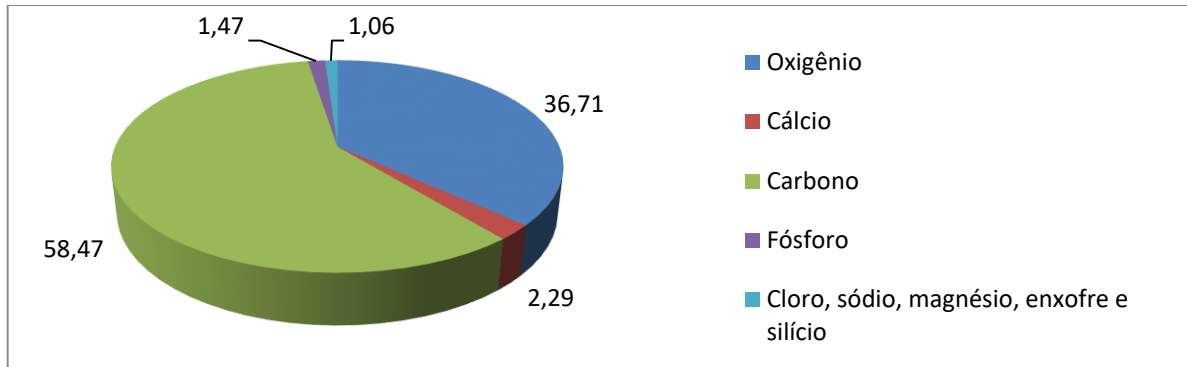
Nos nódulos 06 e 07, localizados no canal radicular, houve uma predominância maciça dos elementos carbono (59,57%/58,47%) e oxigênio (34,02%/36,71%). Pequenas quantidades de cálcio (3,30%/2,29%) e fósforo (1,16%/1,47%) foram detectadas, seguidos por traços de sódio, magnésio, cloro, enxofre e silício.

Gráfico 7 - Composição química de área lisa, levemente sulcada, do nódulo radicular 06.



Fonte: próprio autor.

Gráfico 8 - Composição química de área porosa do nódulo radicular 07.



Fonte: próprio autor.

A presença de ouro nas amostras não foi considerada, pois este elemento fez parte do processo de metalização dos nódulos para leitura em microscópio eletrônico de varredura.

Quadro 1 - Quadro descritivo indicando localização, relação com parede dentinária, morfologia, tamanho e topografia predominante das mineralizações.

Nº nódulo	Localização	Relação com parede dentinária	Morfologia	Tamanho	Topografia predominante
01	Câmara pulpar	Aderido	Difusa (fragmento ovóide)	2,00 mm (diâmetro)	Irregular
02	Câmara pulpar	Parcialmente aderido à dentina	Nodular (ovóide alongado)	2,00 x 0,5 mm	Irregular
03	Câmara pulpar	Livre	Nodular (ovóide)	2,00 mm (diâmetro)	Irregular
04	Câmara pulpar	Indefinido	Nodular (ovóide)	1,0 mm (diâmetro)	Lisa e compacta
05	Câmara pulpar	Indefinido	Nodular (retangular)	1,0 mm (diâmetro)	Lisa e compacta
06	Canal radicular	Parcialmente aderido à dentina	Cilíndrico (cordão)	4,0 mm (comprimento)	Irregular sulcada
07	Canal radicular	Livre	Cilíndrico (filete)	7,0 mm (comprimento)	Irregular sulcada

Fonte: próprio autor.

Tabela 1 - Tabela comparativa indicando localização, topografia da área analisada, elementos químicos encontrados em ordem decrescente de concentração, com respectivo percentual, e razão molar Ca/P.

Nº Nódulo	Localização	Topografia da área analisada	Elementos químicos						Razão Ca/P
			1º	2º	3º	4º	5º	6º	
01	Coronário	Lisa e porosa	O 41,5%	Ca 24,93%	C 17,95%	P 11,58%	Zn, Na, Cl e Mg 4,04%	-	2,15
02	Coronário	Porosa	O 35,14%	C 19,95%	Ca 17,25%	Zn 12,64%	P 9,16%	Na, Cl, Mg e Si 5,86%	1,88
03	Coronário	Lisa	C 37,88%	O 34,33%	Ca 17,89%	P 8,78%	Na e Mg 1,12%	-	2,03
04	Coronário	Lisa	Ca 29,74%	C 26,23%	O 25,07%	P 15,26%	Zn, Na, e Mg 3,7%	-	1,94
05	Coronário	Lisa	Ca 41,24%	C 26,22%	O 15,29%	P 13,83%	Cl 3,42%	-	2,98
06	Radicular	Lisa	C 59,57%	O 34,02%	Ca 3,3%	Cl, Na, Mg, S e Si 1,95%	P 1,16%	-	2,84
07	Radicular	Porosa	C 58,47%	O 36,71%	Ca 2,29%	P 1,47%	Cl, Na, Mg, S e Si 1,06%	-	1,55

Fonte: próprio autor.

4 DISCUSSÃO

Os nódulos pulpare são mineralizações ectópicas que ocorrem na intimidade do tecido conjuntivo pulpar. Estas formações resultam em um processo de calcificação distrófica, onde alterações teciduais predispõem o depósito de sais de fosfato de cálcio na matriz extracelular da polpa^(22,23).

Sabe-se que a etiologia das mineralizações ectópicas pulpares são agressões de longa duração e baixa intensidade, como traumatismos, cáries crônicas de progressão lenta, restaurações profundas, doença periodontal crônica, forças oclusais excessivas e desgastes dentários. Estes estímulos patológicos quebram a homeostasia do tecido conjuntivo pulpar e podem provocar distúrbios circulatórios no plexo vascular, alterações degenerativas e pequenas zonas de necrose na polpa^(4, 24-25).

A substância P é um neuropeptídeo liberado por terminações nervosas na presença de estímulos patológicos, como trauma oclusal, lesões de cárie e preparos cavitários^(26,27). Este neuropeptídeo regula o processo de apoptose celular e está relacionado à alterações degenerativas que podem levar às mineralizações ectópicas⁽²⁸⁾. Li et al (2011)⁽²⁹⁾ sugerem que condições de hipóxia tecidual também podem predispor ao aparecimento de calcificações distróficas. O processo de envelhecimento do tecido conjuntivo pulpar é outro fator que contribui para o aparecimento de zonas de mineralização. Nestes casos, há uma diminuição do suprimento vascular, nervoso e da celularidade da polpa, especialmente na câmara pulpar, e o aparecimento de zonas de degeneração hialina, que consistem no aumento no conteúdo fibrilar, com espessamento e condensação de fibras colágenas^(11,23,30-31). Tranasi et al (2009)⁽³²⁾ observaram um aumento na expressão de genes relacionados à apoptose em células de polpas envelhecidas.

Vários autores propõem que a patogênese das mineralizações ectópicas dos tecidos conjuntivos possui semelhanças com o processo fisiológico de mineralização dos tecidos duros do organismo^(18-19,33).

No processo fisiológico de formação dos tecidos mineralizados do corpo humano, as células responsáveis pela formação dos tecidos duros, como osteoblastos, odontoblastos e cementoblastos são estimuladas a produzir vesículas, que brotam da membrana plasmática para a matriz extracelular, contendo cristais de fosfato de cálcio em formação. Estas estruturas, conhecidas como vesículas da matriz, propiciam um microambiente favorável ao processo de nucleação inicial dos cristais de hidroxiapatita. A membrana plasmática destas vesículas possui proteínas acopladas, que regulam o processo de cristalização, entre elas a fosfatase alcalina e anexinas. A fosfatase alcalina tem o papel de clivar o pirofosfato, que é uma enzima presente na matriz extracelular e que inibe o processo de mineralização, em fosfato inorgânico. Desta forma, além de inibir a ação da pirofosfato, participa no fornecimento de íons fosfato para a nucleação dos cristais. As anexinas II, V e VI formam canais de cálcio na membrana plasmática das vesículas, que permitem o influxo destes íons para o seu interior⁽³⁴⁾. Com o desenvolvimento do processo de nucleação e crescimento dos cristais, estes rompem a membrana plasmática da vesícula e se depositam na matriz extracelular do tecido conjuntivo. Fatores promotores e inibidores da mineralização, presentes na matriz extracelular, também participam ativamente da regulação desse processo⁽³⁵⁻³⁷⁾.

A patogênese das mineralizações ectópicas pode ocorrer de duas formas distintas: (1) através da liberação de vesículas da matriz por células que, por estímulos patológicos, adquiriram potencial osteogênico; (2) por estruturas orgânicas com capacidade de atrair sais de fosfato de cálcio, como corpos apoptóticos, células necróticas, pequenos trombos sanguíneos e matriz extracelular hialinizada⁽³⁸⁻⁴¹⁾.

O padrão morfológico das mineralizações ectópicas que ocorrem no tecido conjuntivo pulpar parece ser determinado pela patogênese do processo de formação das estruturas, que ao mesmo tempo parece ser influenciada pela localização e pela extensão das alterações teciduais na cavidade pulpar. Estas mineralizações pulpares seguem dois padrões morfológicos, sendo eles: nodular (esférico/ovóide) e difuso (refletindo a anatomia da câmara pulpar e canal radicular ou sem forma definida)^(1,42).

4.1 Análise morfológica

Neste estudo foi possível analisar, através da microscopia eletrônica de varredura (MEV), os aspectos morfológicos de mineralizações pulpares ectópicas em diferentes aumentos. Nas imagens obtidas, pode-se observar que estas estruturas variaram consideravelmente de forma, tamanho e topografia.

A localização das mineralizações na cavidade pulpar foi o fator que mais interferiu na morfologia das estruturas analisadas. A maioria dos nódulos coletados de câmaras pulpares apresentou formato nodular ovóide, contudo, uma das estruturas coletadas da câmara pulpar apresentou formato difuso, assemelhando-se à anatomia interna da cavidade pulpar coronária. As mineralizações situadas nos canais radiculares possuíam formato difuso cilíndrico e alongado.

Estes achados se assemelham aos encontrados por outros estudos que também avaliaram a morfologia de nódulos pulpares através da microscopia eletrônica de varredura. Foreman (1984)⁽⁸⁾ observou no seu estudo que em câmaras pulpares os depósitos mineralizados esféricos predominaram, enquanto que nos canais radiculares somente foram observadas as mineralizações difusas com orientação axial ao longo eixo do canal. O autor afirma ainda que as mineralizações radiculares formam depósitos tubulares e colunares que se coalescem em uma massa densa. Le May e Kaqueler (1991)⁽⁹⁾ observaram que a maioria dos nódulos é redonda ou oval, contudo podem exibir uma morfologia mais complexa, às vezes refletindo uma duplicação reduzida da anatomia da câmara pulpar. Os nódulos encontrados na raiz palatina dos molares superiores ou na raiz distal dos molares inferiores apresentaram formato cônico em forma de bastão, com ampla base coronal e se tornam mais finos em direção à região apical. Curiosamente, este autor reportou um nódulo ovóide de grande proporção, dentro do canal radicular de um canino.

As mineralizações nodulares são mais comuns na câmara pulpar^(1,6,42). Sabe-se que na polpa coronária há uma zona subodontoblástica rica em células e uma zona central composta por diversos tipos celulares. As fibras colágenas são mais delgadas e, além disso, os vasos e nervos, que penetram através do forame apical e percorrem o canal radicular, se ramificam na câmara pulpar e formam um plexo

capilar e nervoso bem distribuído. Estas características anatômicas e histológicas conferem à polpa coronária uma maior taxa de celularidade, apresentando fibroblastos, células endoteliais, células mesenquimais indifrenciadas, macrófagos, entre outras⁽⁴³⁾.

Na presença de estímulos patológicos, estas células poderiam sofrer processos de apoptose ou necrose. O rompimento de capilares do plexo vascular coronário, em razão de microtraumas, resultaria em necrose de células endoteliais e na formação de pequenos trombos, contendo plaquetas. Estas células danificadas liberam corpos celulares para a matriz extracelular do tecido conjuntivo, contribuindo para um padrão nodular de mineralização ao seu redor⁽²⁰⁾. Estas estruturas celulares contêm fragmentos de membrana plasmática exibindo, na superfície externa, a fosfatidilserina, um componente fosfolipídico que tem a capacidade de ligar-se à íons cálcio e fosfato inorgânico. Desta forma, inicia-se um acúmulo mineral ao redor destes corpos⁽⁴⁴⁾. As células apoptóticas, se não fagocitadas, aceleram o processo de mineralização patológica⁽¹⁸⁾. Para Kirsch et al (2012)⁽³³⁾ o processo de mineralização mediado por células em processo de apoptose não é mediado por vesículas da matriz e não necessita de enzimas como a fosfatase alcalina. Portanto, fragmentos de células necróticas e corpos apoptóticos funcionariam como um núcleo iniciador que atrairia sais de fosfato de cálcio e ao redor destes, cristais de hidroxiapatita se depositariam com um padrão de crescimento radial por incrementos, formando estruturas esféricas ou ovóides⁽¹³⁾.

Por outro lado, as mineralizações difusas ocorrem com maior frequência na polpa radicular^(1,11,42). Este tecido possui um menor conteúdo celular, presença mais abundante de fibras colágenas e vasos sanguíneos e nervos mais calibrosos, seguindo uma orientação ao longo eixo do canal⁽⁴³⁾.

Vários autores propõem que alterações circulatórias no plexo vascular ou mediadores químicos liberados pelo estresse oxidativo, decorrente de estímulos patológicos, poderiam estimular a diferenciação de células musculares lisas de arteríolas pulpares em células com potencial osteogênico. Estas células metaplásicas liberariam vesículas da matriz que se difundiriam pela membrana basal ao longo dos vasos e, em seguida, na matriz extracelular do conjuntivo adjacente e

depositariam os primeiros cristais de fosfato de cálcio nestas regiões. Posteriormente, o crescimento das estruturas mineralizadas ocorreria por nucleação heterogênea^(19,39,45-48). Caviedes-Bucheli et al (2016)⁽⁴⁹⁾ afirmam que alterações vasculares, mediadas pela substância P, ocorrem em como resposta ao trauma oclusal e alterações arterioescleróticas predispõem a camada adventícia de vasos pulpares ao processo de mineralização. O fato de a polpa radicular apresentar vasos de maior calibre, com presença de células musculares lisas nas suas paredes, poderia predispor esta zona da cavidade pulpar à este padrão de mineralização. Podemos sugerir então que, como as vesículas da matriz se difundem pelas estruturas teciduais, isso permite que vários focos de cristais de apatita sejam depositados na matriz extracelular, o que determinaria, portanto, um padrão difuso de mineralização.

O maior conteúdo fibrilar da polpa radicular poderia predispor esta região a apresentar zonas mais extensas de degeneração hialina, quando submetidas a estímulos patológicos ou ao processo de envelhecimento. As bainhas das fibras nervosas podem sofrer degeneração gordurosa, primeiramente no endoneuro, seguindo para o perineuro, e posteriormente acometendo toda a estrutura nervosa. Estas zonas mais extensas de alteração tecidual serviriam de arcabouço orgânico para o depósito de cristais de fosfato de cálcio^(20,30). Desta forma, e com base nos resultados dos aspectos morfológicos e da composição química dos nódulos 06 e 07, acreditamos que o processo de mineralização em áreas extensas de degeneração tecidual também tende a apresentar um padrão morfológico difuso, pois o crescimento da estrutura mineralizada ocorre por nucleação heterogênea, propagando-se de forma desordenada sobre a matriz extracelular alterada, incorporando estruturas fibrilares, vasculares e nervosas durante o seu desenvolvimento.

Neste estudo foi observado um nódulo coronário com padrão de mineralização difuso, refletindo a anatomia da câmara pulpar. Vale ressaltar que este achado não é incomum de ocorrer. Áreas mais extensas de alteração tecidual na polpa coronária, como zonas de degeneração hialina em polpas envelhecidas, poderiam desencadear a formação de estruturas com padrão de mineralização difuso.

Macrófagos também tem o potencial de secretar vesículas da matriz sob estímulos de proteínas liberadas por células estressadas⁽⁵⁰⁾.

4.2 Análise topográfica

A análise das mineralizações revelou dois padrões de topografia das estruturas: superfícies lisas e compactas e áreas de relevo acidentado e poroso.

Os nódulos coletados das câmaras pulpares apresentaram relevo heterogêneo, com áreas lisas e compactas contrastando com áreas bem irregulares, porosas e acidentadas. Esta diferença no relevo poderia representar momentos distintos do processo de mineralização, onde áreas lisas e compactas indicariam zonas mais maduras do processo, enquanto as áreas acidentadas e porosas representariam zonas onde o processo de mineralização estaria ativo e em curso.

Uma vez iniciado, o processo de crescimento dos nódulos ocorre por nucleação heterogênea, no qual íons cálcio e fosfato presentes na matriz extracelular são adsorvidos pela estrutura cristalina em formação. Para que este processo de mineralização no tecido conjuntivo ocorra é necessário um meio saturado de íons cálcio e fosfato, fatores iniciadores e inibidores. No processo de mineralização, as proteínas não colagênicas presentes na matriz extracelular possuem um papel importante na nucleação e crescimento dos cristais de hidroxiapatita^(19,51). Jahromi et al (2012)⁽⁵²⁾ afirmam que estas proteínas possuem na sua estrutura aminoácidos que podem influenciar a morfologia dos cristais de hidroxiapatita.

Outra hipótese é que a heterogeneidade da topografia dos nódulos poderia sugerir a ocorrência simultânea de mineralizações com patogêneses distintas. Estruturas esféricas e ovóides, que sugerem um padrão de mineralização incremental, com crescimento cristalino ao redor de núcleos iniciadores, geralmente apresentam topografia lisa e compacta. Alguns nódulos coronários coletados neste estudo, com relevo liso e compacto, pareciam estar recobertos por outras estruturas mineralizadas de morfologia difusa e relevo acidentado. Esta característica topográfica poderia sugerir a fusão de duas estruturas formando um único nódulo, envolvendo patogêneses distintas.

Os nódulos radiculares apresentaram topografia sulcada, com orientação sinuosa, parecendo recobrir estruturas vasculares, nervosas ou fibrilares. Estes achados corroboram os estudos que afirmam que nos canais radiculares predominam mineralizações difusas sobre estruturas orgânicas que percorrem o longo eixo do canal radicular^(1,6,42). Também podemos observar nestas estruturas radiculares áreas com relevo mais compacto, e outras com zonas mais porosas e irregulares, possivelmente refletindo fases cronológicas distintas do processo de mineralização.

4.3 Análise estrutural

A presença de estruturas tubulares no interior das mineralizações pulpare é uma característica que serve de parâmetro para a classificação dos nódulos em verdadeiros ou falsos. Os nódulos verdadeiros seriam compostos por dentina e revestidos por odontoblastos, porém eles são raramente visualizados em estudos de microscopia^(1,10). Alguns autores⁽¹⁰⁾ afirmam que eles seriam mais reportados no terço apical do canal, como decorrência de rupturas da bainha epitelial de Hertwig no momento da rizogênese, e que seriam englobados pela dentina durante o processo de dentinogênese. Na grande maioria das vezes, observa-se os nódulos classificados como falsos, que apresentam estrutura atubular, revelando padrão de mineralização concêntrico^(1,10).

O fato de não podermos visualizar o interior das estruturas é uma das limitações deste estudo. Contudo, em um dos nódulos analisados (nódulo 01), foi possível observar estruturas tubulares, paralelas entre si, em uma zona de fratura que expôs o interior da estrutura nodular. O diâmetro destes túbulos, de aproximadamente 3,0 μm , são compatíveis com o diâmetro médio de túbulos dentinários (0,9 a 3,0 μm)⁽⁴³⁾. A presença de calcosferitos na superfície interna destas estruturas, se projetando para o interior do lúmen, indicaria um local ativo de processo de mineralização. Ao analisar a radiografia pré-operatória deste dente, observou-se uma câmara pulpar bastante atrésica, possivelmente com formação de dentina terciária. Clinicamente através da cavidade de acesso, verificou-se mineralização difusa, com anatomia semelhante à da câmara pulpar, aderida à dentina da parede da cavidade pulpar. Possivelmente, por se tratar de um nódulo aderido à parede da cavidade pulpar, durante a sua remoção, parte da dentina ficou aderida à superfície do nódulo, o que

explicaria a presença das estruturas tubulares nas imagens do nódulo 01. Os calcosferitos no interior do túbulo indicariam um processo de esclerose dentinária em progressão, como resposta a estímulos de baixa intensidade e longa duração sofrido pelo dente⁽⁴³⁾. O nódulo 02 também apresentou poros na sua superfície lisa, o que poderia representar a abertura de estruturas tubulares. Desta forma, pode-se sugerir que, da mesma forma no nódulo 01, a dentina das paredes da cavidade pulpar tenha se fundido com a estrutura nodular, durante o seu desenvolvimento.

4.4 Quantificação química em EDX

A composição química das mineralizações, analisada através da espectroscopia de energia dispersiva de raios x, demonstrou a predominância dos elementos químicos carbono, oxigênio, cálcio e fósforo, sugerindo uma fase orgânica e outra inorgânica. A localização na cavidade pulpar e a topografia, se lisa ou porosa, interferiram na composição química das áreas analisadas.

A presença de carbono e oxigênio poderia indicar a presença de uma fase orgânica nos nódulos, pois estes dois elementos são abundantes nas moléculas orgânicas que constituem os componentes da matriz extracelular do tecido conjuntivo e que são englobadas na estrutura das mineralizações^(42,43). Hillmann e Geurtsen (1997)⁽¹¹⁾ observaram, sob microscopia óptica, a presença de vários tipos de fibras colágenas distribuídos de forma concêntrica em nódulos pulpares coronários. Nas mineralizações difusas radiculares, os autores observaram depósitos de apatita paralelo à fibras colágenas de vários tipos. Ninomiya et al (2001)⁽⁵³⁾ identificaram na estrutura dos nódulos, além de colágeno, proteínas não colagênicas envolvidas no processo de mineralização, como a osteopontina.

A fase inorgânica dos nódulos, representada pelos elementos cálcio e fósforo, seria composta por sais de fosfato de cálcio, na forma cristalina de apatitas biológicas^(9,12). A literatura é controversa no que diz respeito à fase mineral das apatitas que compõem as mineralizações pulpares. A razão molar entre os elementos cálcio e fósforo é o que determina a fase mineral do fosfato de cálcio. Aparecida et al (2007)⁽⁵⁴⁾ afirmam que os nódulos pulpares podem conter hidroxiapatita (Ca/P: 1,67),

fosfato de cálcio amorfo (Ca/P: 1,5), mono-hidrogênio fosfato de cálcio dihidratado (Ca/P: 1,0), fosfato octacálcico (Ca/P: 1,33) e fosfato tricálcico (Ca/P: 1,5).

Em mineralizações ectópicas patológicas, podem-se encontrar alterações na molécula de hidroxiapatita. Observa-se a presença de elementos que não compõem a fórmula estequiométrica da hidroxiapatita conhecida como $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Os íons fosfato podem ser substituídos por íons carbonato, resultando na formação de hidroxiapatita carbonatada⁽¹³⁾.

Neste estudo, foi encontrada uma razão molar Ca/P que variou entre 1,55 até 2,98 (ver tabela 3). O nódulo radicular 07 apresentou a menor razão molar das amostras analisadas, correspondendo à fase de fosfato de cálcio amorfo. Os nódulos 02 e 04 apresentaram a razão molar Ca/P de 1,88 e 1,94, respectivamente. Este achado é semelhante ao encontrado por Aoba et al (1980)⁽⁵⁵⁾, que encontrou uma razão molar Ca/P de 1,86. Os demais nódulos apresentaram a razão molar Ca/P maior que 2,0. Trowbridge (2003)⁽⁵⁶⁾, ao analisar a composição química de pequenos nódulos pulpares encontrou uma razão molar de Ca/P de 2,11. A espectrometria por infravermelho revelou que a fase mineral era composta por hidroxiapatita carbonatada. Béres et al (2016)⁽¹³⁾ afirma que os nódulos pulpares seriam constituídos principalmente pela hidroxiapatita carbonatada, o que também poderia explicar a presença do elemento carbono encontrado em grandes proporções na análise das amostras deste estudo. Arys et al (1989)⁽⁵⁷⁾ reportaram a presença de um nódulo pulpar composto por brushita.

Danilchenko et al (2013)⁽⁵⁸⁾ analisaram a composição química de depósitos minerais cardiovasculares. Os autores encontraram, através da análise por EDX, razões molares Ca/P que variaram entre 2,04 a 2,95, bem superiores à razão molar da hidroxiapatita de 1,67. Para os autores, fases cristalinas contendo CaO e CaCO_3 , ao invés de fósforo, podem explicar as altas razões molares Ca/P encontradas. Além disso, excesso de cálcio pode estar concentrado na superfície dos cristais analisados. Simpson (1972)⁽⁵⁹⁾ também afirma que a razão molar Ca/P de mineralizações pode ser superior ao valor teórico (1,67) da hidroxiapatita porque a substituição dos íons fosfato por íons carbonato resultam em um aumento da relação molar Ca/P. Estes achados poderiam explicar as razões molares Ca/P

variando entre 2,03 à 2,98 encontradas em algumas amostras analisadas neste estudo.

Nas mineralizações coronárias o elemento predominante variou entre o oxigênio, o carbono e o cálcio. Esta variação poderia indicar maior ou menor presença da fase orgânica na área analisada. Em áreas lisas observou-se uma maior concentração de cálcio, enquanto nas porosas predominou o oxigênio. Em uma zona porosa do nódulo 02, o elemento zinco foi encontrado em uma concentração maior que o fósforo e os elementos sódio, cloro, magnésio e silício também foram encontrados em concentração considerável. Este achado sugere que a topografia porosa da mineralização influencia a incorporação de outros elementos químicos à sua estrutura. Béres et al (2016)⁽¹³⁾ também encontraram níveis elevados de zinco em nódulos pulpares, além do elemento cobre. Para os autores, a presença destes elementos seria explicada pelo aumento da enzima antioxidante Cu/Zn-superóxido dismutase, secretadas por odontoblastos para controlar o estresse oxidativo.

O nódulo 05 apresentou uma zona contendo somente cristais de cloreto de sódio aderidos à sua superfície, o que pode ser explicado pelo uso de hipoclorito de sódio como substância irrigadora durante o tratamento endodôntico.

As mineralizações radiculares revelaram uma concentração consideravelmente maior de carbono e oxigênio, quando comparadas às mineralizações coronárias. Este achado poderia indicar que nestes casos foram encontradas estruturas orgânicas mais robustas, como feixes vasculares, nervosos e fibrilares, que sofreram um processo de mineralização difusa, ao passo que nos nódulos coronários com morfologia concêntrica e lamelar, as estruturas orgânicas são diminutas, como células necróticas ou degeneradas, circundadas por depósitos de sais de fosfato de cálcio ao seu redor.

5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados analisados, pode-se concluir que as mineralizações pulpares variam consideravelmente de forma, tamanho e topografia. A maior parte das mineralizações encontradas em câmaras pulpares apresenta morfologia nodular enquanto que as situadas nos canais radiculares apresentam formato difuso, assemelhando-se à anatomia dos canais radiculares. A topografia dos nódulos apresenta relevo heterogêneo, apresentando áreas lisas e compactas concomitantemente com outras acidentadas e porosas. A composição química das mineralizações variou dependendo da localização do nódulo na cavidade pulpar e do relevo da área analisada. As mineralizações radiculares apresentaram teor de cálcio e fósforo consideravelmente menor do que os nódulos coronários. A alta taxa de celularidade da polpa coronária predispõe esta região à mineralizações nodulares ao redor de células lesadas. A presença de feixes vasculares mais calibrosos e maior teor de fibras colágenas na polpa radicular determina um padrão morfológico difuso nesta região.

REFERÊNCIAS

1. Goga R, Chandler NP, Oginni AO. Pulp stones: a review. *Int Endod J.* 2008 Jun;41(6):457-68.
2. Jannati R, Afshari M, Moosazadeh M, Allahgholipour SZ, Eidy M, Hajihoseini M. Prevalence of pulp stones: A systematic review and meta-analysis. *J Evid Based Med.* 2019 May;12(2):133-139.
3. Hsieh CY, Wu YC, Su CC, Chung MP, Huang RY, Ting PY et al. The prevalence and distribution of radiopaque, calcified pulp stones: A cone-beam computed tomography study in a northern Taiwanese population. *J Dent Sci.* 2018 Jun;13(2):138-144.
4. da Silva EJNL, Prado MC, Queiroz PM, Nejaim Y, Brasil DM, Groppo FC et al. Assessing pulp stones by cone-beam computed tomography. *Clin Oral Investig.* 2017 Sep;21(7):2327-2333.
5. Carvalho TS, Lussi A. Age-related morphological, histological and functional changes in teeth. *J Oral Rehabil.* 2017 Apr;44(4):291-298.
6. Deva V, Mogoantă L, Manolea H, Pancă OA, Vătu M, Vătăman M. Radiological and microscopic aspects of the denticles. *Rom J Morphol Embryol.* 2006;47(3):263-8.
7. Schaffner M, Stich H, Lussi A. Denticles: dental pulp calculi. *Swiss Dent J.* 2014;124(4):416-7.
8. Foreman PC. Micromorphology of mineralization deposits in the pulps of human teeth. *Int Endod J.* 1984 Oct;17(4):183-91.
9. Le May O, Kaqueler JC. Scanning electron microscopic study of pulp stones in human permanent teeth. *Scanning Microsc.* 1991 Mar;5(1):257-67.
10. Moss-Salentijn L, Klyvert MH. Epithelially induced denticles in the pulps of recently erupted, noncarious human premolars. *J Endod.* 1983 Dec;9(12):554-60.
11. Hillmann G, Geurtsen W. Light-microscopical investigation of the distribution of extracellular matrix molecules and calcifications in human dental pulps of various ages. *Cell Tissue Res.* 1997 Jul;289(1):145-54.
12. Le May O, Kaqueler JC. Electron probe micro-analysis of human dental pulp stones. *Scanning Microsc.* 1993 Mar;7(1):267-71.
13. Berès F, Isaac J, Mouton L, Rouzière S, Berdal A, Simon S et al. Comparative Physicochemical Analysis of Pulp Stone and Dentin. *J Endod.* 2016 Mar;42(3):432-8.

14. Gabardo MCL, Wambier LM, Rocha JS, K uchler EC, de Lara RM, Leonardi DP et al. Association between Pulp Stones and Kidney Stones: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Endod.* 2019 Sep;45(9):1099-1105.
15. Movahhedian N, Haghnegahdar A, Owji F. How the Prevalence of Pulp Stone in a Population Predicts the Risk for Kidney Stone. *Iran Endod J.* 2018 Spring;13(2):246-250.
16. Bains SK, Bhatia A, Singh HP, Biswal SS, Kanth S, Nalla S. Prevalence of coronal pulp stones and its relation with systemic disorders in northern Indian central punjabi population. *ISRN Dent.* 2014 Apr 22;2014:617590.
17. Yeluri G, Kumar CA, Raghav N. Correlation of dental pulp stones, carotid artery and renal calcifications using digital panoramic radiography and ultrasonography. *Contemp Clin Dent.* 2015 Sep;6(Suppl 1):S147-51.
18. Kirsch T. Determinants of pathologic mineralization. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2008;18(1):1-9.
19. Golub EE. Biomineralization and matrix vesicles in biology and pathology. *Semin Immunopathol.* 2011 Sep;33(5):409-17.
20. Sundell JR, Stanley HR, White CL. The relationship of coronal pulp stone formation to experimental operative procedures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1968 Apr;25(4):579-89.
21. Vibhute NA, Vibhute AH, Rajendra DT, Bansal PP, Mahalle A. Hard Facts about Stones: Pulpal Calcifications: A Review. *J Pat Care.* 2016;2(1)1-4.
22. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Lesão celular, morte celular e adapta es. In: Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Robbins Patologia Básica.* 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 1-28.
23. Consolaro A. Envelhecimento, calcifica es e mecanismos de defesa dentinopulpaes: indicadores de sua capacidade reacional e reparatória ou altera es adaptativas dentinopulpaes. In: Consolaro A. *Biologia e Patologia da Polpa e Peri pice para as especialidades clínicas!*. Maringá: Dental Press; 2018. 42-74.
24. Sener S, Cobankara FK, Akg n  F. Calcifications of the pulp chamber: prevalence and implicated factors. *Clin Oral Investig.* 2009 Jun;13(2):209-15.
25. Kannan S, Kannepady SK, Muthu K, Jeevan MB, Thapasum A. Radiographic assessment of the prevalence of pulp stones in Malaysians. *J Endod.* 2015 Mar;41(3):333-7.
26. Caviedes-Bucheli J, Correa-Ort z JA, García LV, López-Torres R, Lombana N, Muñoz HR. The effect of cavity preparation on substance P expression in human dental pulp. *J Endod.* 2005 Dec;31(12):857-9.

27. Caviedes-Bucheli J, Azuero-Holguin MM, Correa-Ortiz JA, Aguilar-Mora MV, Pedroza-Flores JD, Ulate E et al. Effect of experimentally induced occlusal trauma on substance p expression in human dental pulp and periodontal ligament. *J Endod.* 2011 May;37(5):627-30.
28. O'Connor TM, O'Connell J, O'Brien DI, Goode T, Bredin CP, Shanahan F. The role of substance P in inflammatory disease. *J Cell Physiol.* 2004 Nov;201(2):167-80.
29. Li L, Zhu YQ, Jiang L, Peng W, Ritchie HH. Hypoxia promotes mineralization of human dental pulp cells. *J Endod.* 2011 Jun;37(6):799-802.
30. Burke FM, Samarawickrama DY. Progressive changes in the pulpo-dentinal complex and their clinical consequences. *Gerodontology.* 1995 Dec;12(12):57-66.
31. Ikawa M, Komatsu H, Ikawa K, Mayanagi H, Shimauchi H. Age-related changes in the human pulpal blood flow measured by laser Doppler flowmetry. *Dent Traumatol.* 2003 Feb;19(1):36-40.
32. Tranasi M, Sberna MT, Zizzari V, D'Apolito G, Mastrangelo F, Salini L et al. Microarray evaluation of age-related changes in human dental pulp. *J Endod.* 2009 Sep;35(9):1211-7.
33. Kirsch T. Biomineralization--an active or passive process? *Connect Tissue Res.* 2012;53(6):438-45.
34. Bolean, M. Reconstituição da Anexina V em sistemas de lipossomos: associação com a fosfatase alcalina e correlação com estudos de biomineralização. [Tese]. Ribeirão Preto: Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto; 2014.
35. Wu CY, Martel J, Cheng WY, He CC, Ojcius DM, Young JD. Membrane vesicles nucleate mineralo-organic nanoparticles and induce carbonate apatite precipitation in human body fluids. *J Biol Chem.* 2013 Oct 18;288(42):30571-84.
36. Hasegawa T, Yamamoto T, Tsuchiya E, Hongo H, Tsuboi K, Kudo A et al. Ultrastructural and biochemical aspects of matrix vesicle-mediated mineralization. *Jpn Dent Sci Rev.* 2017 May;53(2):34-45.
37. Hasegawa T. Ultrastructure and biological function of matrix vesicles in bone mineralization. *Histochem Cell Biol.* 2018 Apr;149(4):289-304.
38. Huitema LF, Vaandrager AB. What triggers cell-mediated mineralization? *Front Biosci.* 2007 Jan 1;12:2631-45.
39. Cui L, Houston DA, Farquharson C, MacRae VE. Characterisation of matrix vesicles in skeletal and soft tissue mineralisation. *Bone.* 2016 Jun;87:147-58.

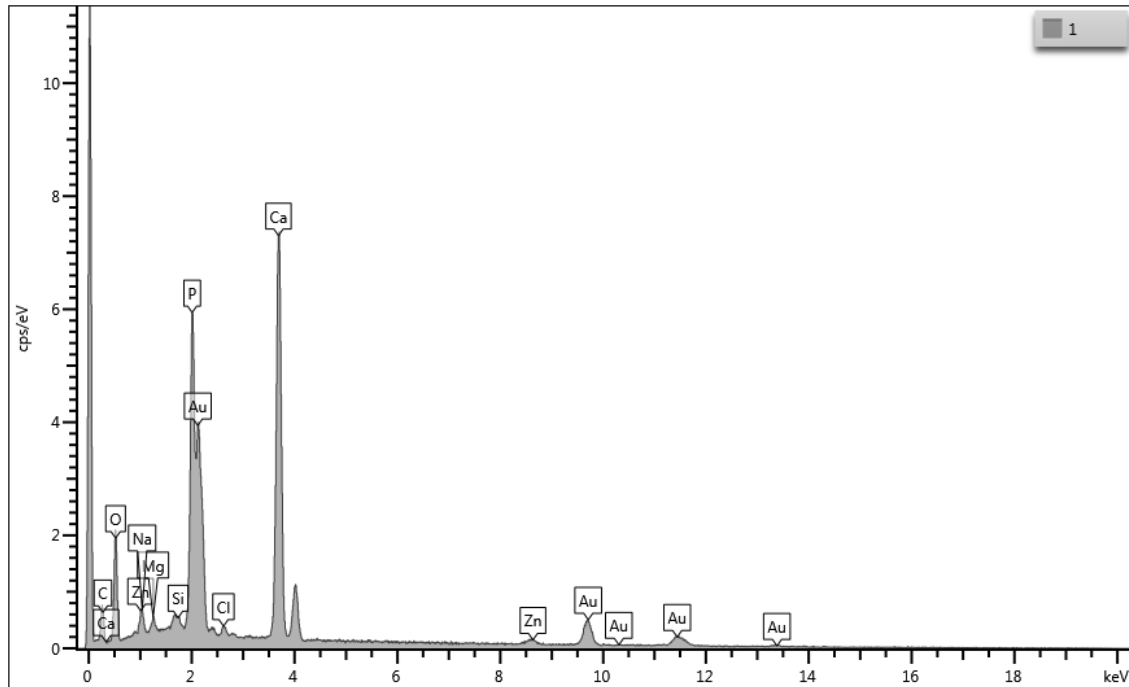
40. Roszkowska M, Strzelecka-Kiliszek A, Magne D, Pikula S, Bessueille L. Membranes and pathophysiological mineralization. *Postepy Biochem.* 2016;62(4):511-517.
41. Roszkowska M, Strzelecka-Kiliszek A, Bessueille L, Buchet R, Magne D, Pikula S. Collagen promotes matrix vesicle-mediated mineralization by vascular smooth muscle cells. *J Inorg Biochem.* 2018 Sep;186:1-9.
42. Frisstad I, Berggreen E. Estrutura e Funções do Complexo Dentino-pulpar. In: Hargreaves KM, Berman LH. *Cohen Caminhos da Polpa.* 11 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2017. 418-463.
43. Nanci A. Complexo Dentina-Polpa. In: Nanci A. *Ten Cate Histologia Oral.* 9 ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2019. 165-204.
44. Kirsch T, Wang W, Pfander D. Functional differences between growth plate apoptotic bodies and matrix vesicles. *J Bone Miner Res.* 2003 Oct;18(10):1872-81.
45. Taylor ER, Stoller ML. Vascular theory of the formation of Randall plaques. *Urolithiasis.* 2015 Jan;43 Suppl 1:41-5.
46. Yiu AJ, Callaghan D, Sultana R, Bandyopadhyay BC. Vascular Calcification and Stone Disease: A New Look towards the Mechanism. *J Cardiovasc Dev Dis.* 2015;2(3):141-164.
47. Yu V, Damek-Poprawa M, Nicoll SB, Akintoye SO. Dynamic hydrostatic pressure promotes differentiation of human dental pulp stem cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009 Sep 4;386(4):661-5.
48. Khan SR, Canales BK. Unified theory on the pathogenesis of Randall's plaques and plugs. *Urolithiasis.* 2015 Jan;43 Suppl 1:109-23.
49. Caviedes-Bucheli J, Gomez-Sosa JF, Azuero-Holguin MM, Ormeño-Gomez M, Pinto-Pascual V, Munoz HR. Angiogenic mechanisms of human dental pulp and their relationship with substance P expression in response to occlusal trauma. *Int Endod J.* 2017 Apr;50(4):339-351.
50. Chen Q, Bei JJ, Liu C, Feng S, Zhao W, Zhou Z et al. HMGB1 Induces Secretion of Matrix Vesicles by Macrophages to Enhance Ectopic Mineralization. *PLoS One.* 2016;11(5):e0156686. Published 2016 May 31.
51. Tavafoghi M, Cerruti M. The role of amino acids in hydroxyapatite mineralization. *J R Soc Interface.* 2016 Oct;13(123): 20160462.
52. Jahromi MT, Yao G, Cerruti M. The importance of amino acid interactions in the crystallization of hydroxyapatite. *J R Soc Interface.* 2012 Dec 26;10(80):20120906.

53. Ninomiya M, Ohishi M, Kido J, Ohsaki Y, Nagata T. Immunohistochemical localization of osteopontin in human pulp stones. *J Endod.* 2001 Apr;27(4):269-72.
54. Aparecida AH, Fook, MVL, Santos ML, Guastaldi, AC. Estudo da influência dos íons K^+ , Mg^{2+} , SO_4^{2-} e CO_3^{2-} na cristalização biomimética de fosfato de cálcio amorfo (ACP) e conversão a fosfato octacálcico (OCP). *Quím. Nova.* 2007;30(4):892-896.
55. Aoba T, Ebisu S, Yagi T. A study of the mineral phase of pulp calcification. *J Oral Pathol.* 1980 May;9(3):129-36.
56. Trowbridge HO. Pulp biology: progress during the past 25 years. *Aust Endod J.* 2003 Apr;29(1):5-12.
57. Arys A, Jedwab J, Pireaux, JJ, Philippart C, Dourov N. Brushite in the pulp of primary molars. *J Oral Pathol Med.* 1989 Aug;18(7):371-6.
58. Danilchenko SN, Kuznetsov VN, Stanislavov AS, Kalinkevich AN, Starikov VV, Moskalenko RA et al. The mineral component of human cardiovascular deposits: morphological, structural and crystal-chemical characterization. *Cryst. Res. Technol.* 2013;48(3):153-162.
59. Simpson DR. Problems of the composition and structure of the bone minerals. *Clin Orthop Relat Res.* 1972 Jul-Aug;86:260-86.

ANEXOS

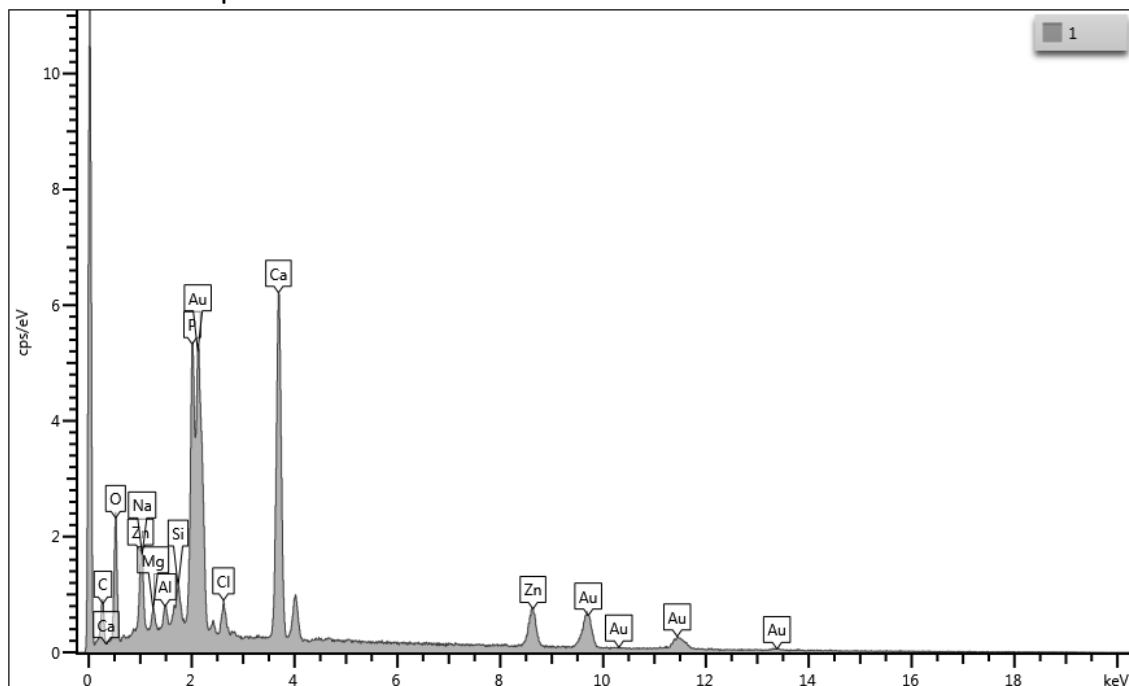
ANEXO A - Espectros EDX dos nódulos.

Nódulo 01 - Espectro EDX do nódulo 01.



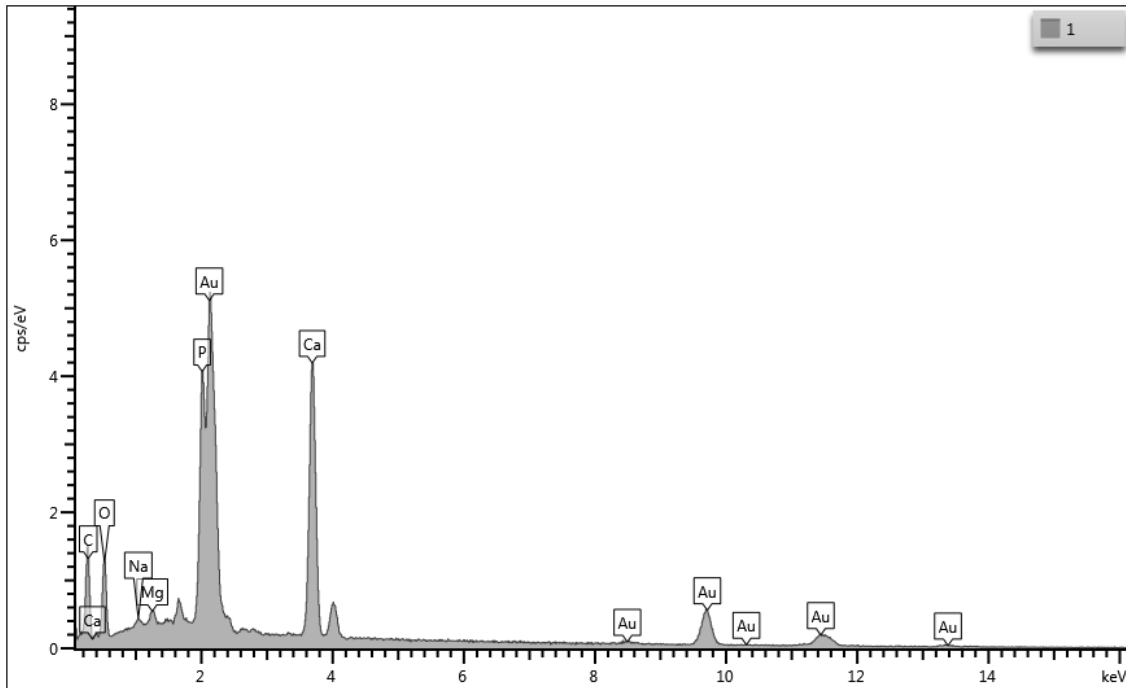
Fonte: José Antônio Poli de Figueiredo.

Nódulo 02 - Espectro EDX do nódulo 02.



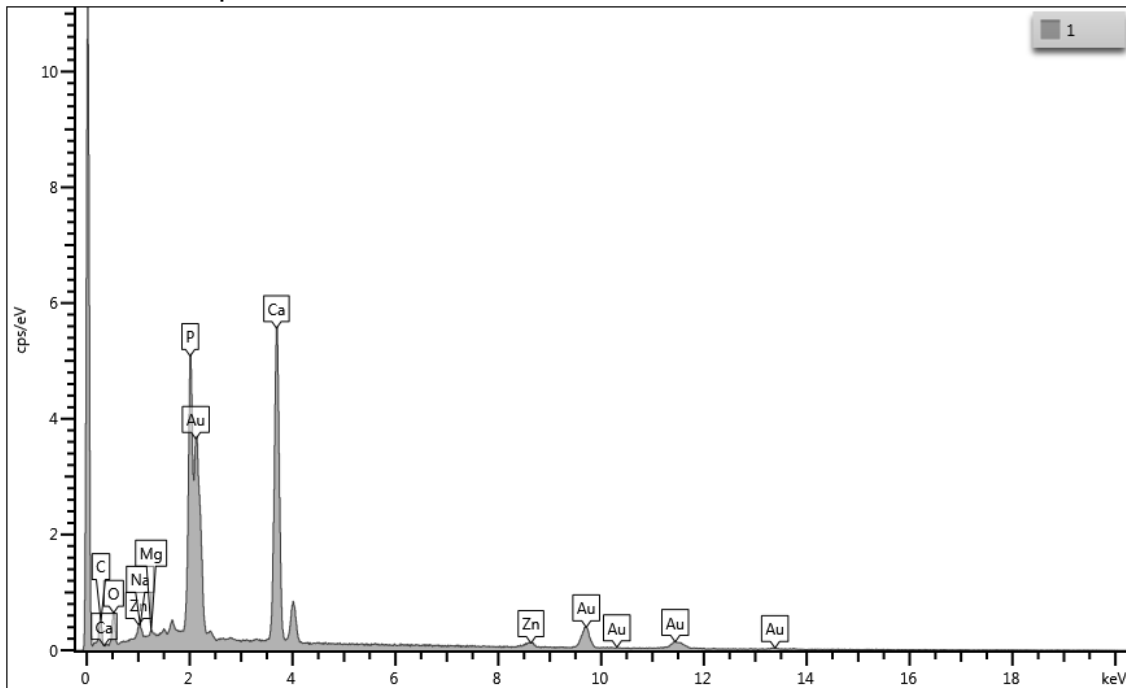
Fonte: José Antônio Poli de Figueiredo.

Nódulo 03- Espectro EDX do nódulo 03.



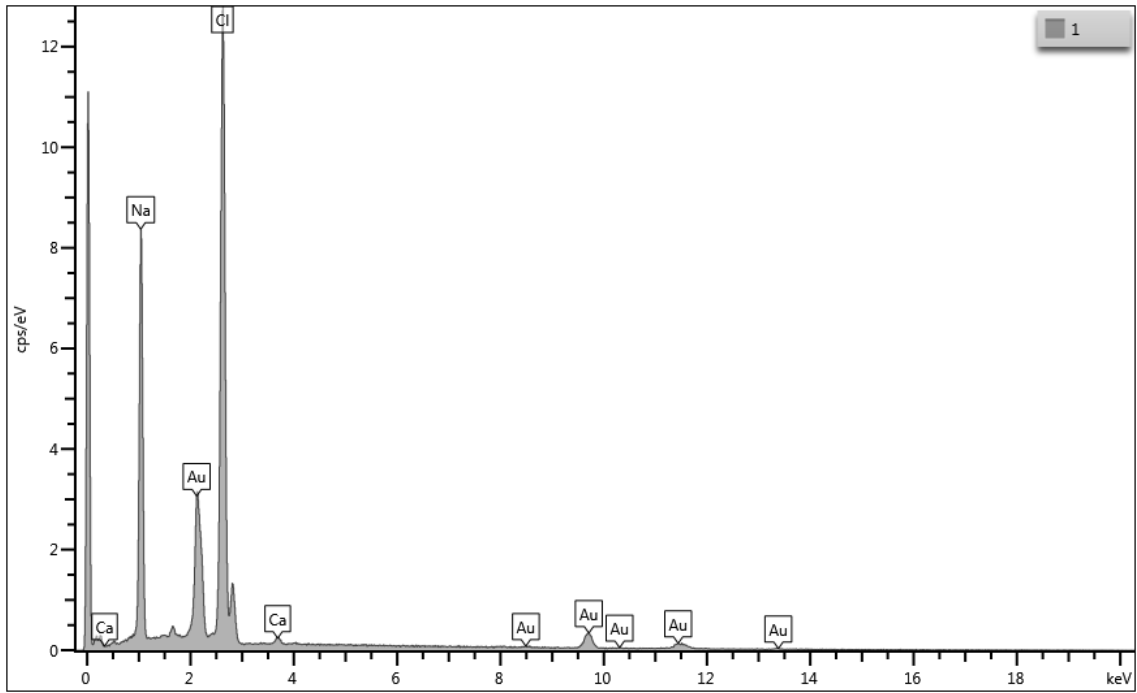
Fonte: José Antônio Poli de Figueiredo.

Nódulo 04 - Espectro EDX do nódulo 04.



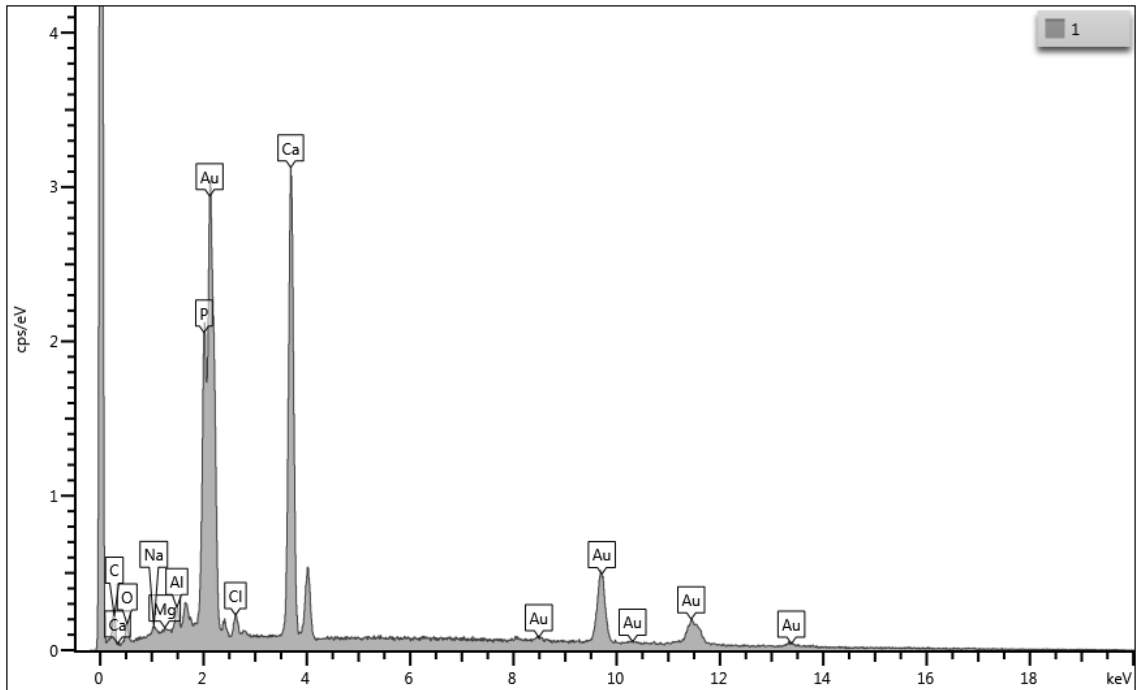
Fonte: José Antônio Poli de Figueiredo.

Nódulo 05 - Espectro EDX da substância exógena do nódulo 05.



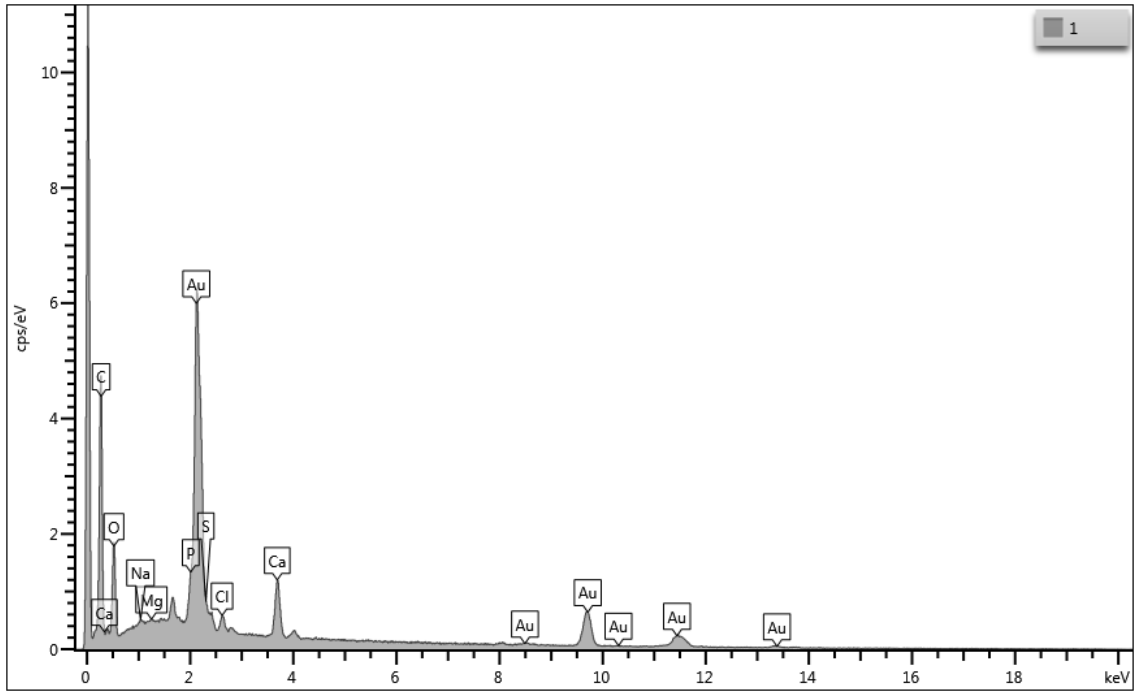
Fonte: José Antônio Poli de Figueiredo.

Nódulo 05 - Espectro EDX do nódulo 05.



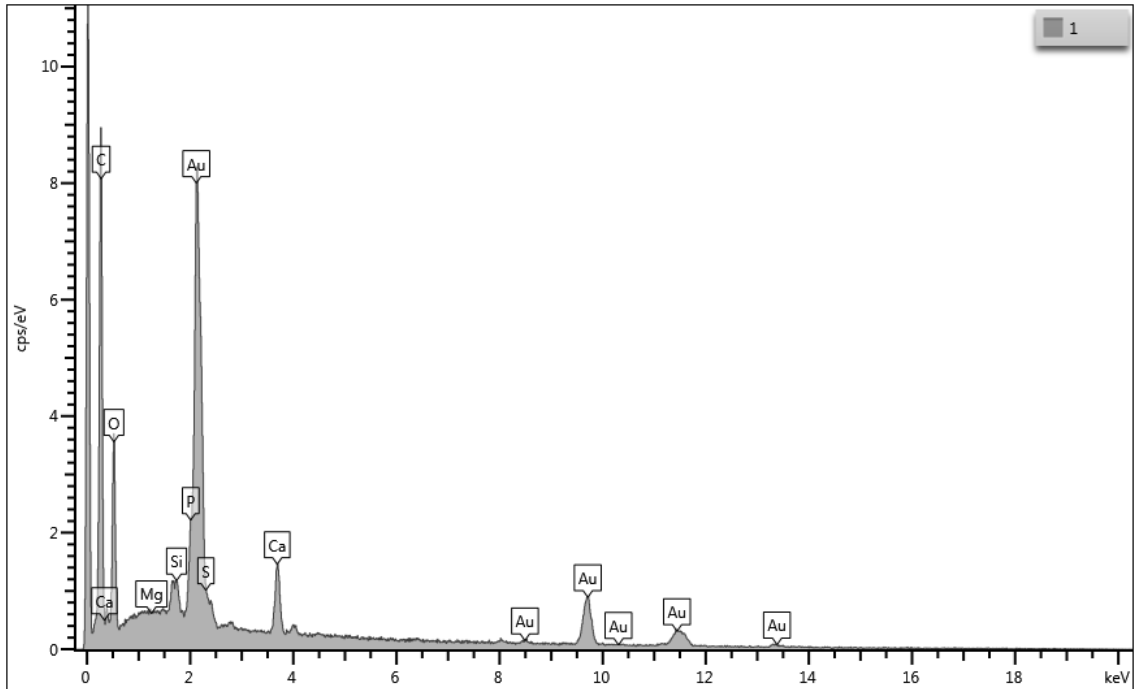
Fonte: José Antônio Poli de Figueiredo.

Nódulo 06 - Espectro EDX do nódulo 06.



Fonte: José Antônio Poli de Figueiredo.

Nódulo 07 - Espectro EDX do nódulo 07.



Fonte: José Antônio Poli de Figueiredo.

ANEXO B – COMPROVANTE DE APROVAÇÃO DE PUBLICAÇÃO DE ARTIGO
(MANUSCRITO I)

Artigo aprovado - Dental Press Endodontics

Endodontics - GNPapers <gnpapers@gnpapers.com.br>

Qui, 03/10/2019 17:05

Para:

- Marcos Vinicius Fernandes Vinicius Cook <marcos.cook@hotmail.com>

ENDODONTICS

Ilmo(a) Sr.(a) Prof(a), Dr(a) Marcos Vinicius Fernandes Vinicius Cook

Número do artigo: 259

Categoria:

Informamos que o artigo **AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DA INFLUÊNCIA DA OBTURAÇÃO DO CANAL RADICULAR NO REPARO DA PERIODONTITE APICAL EM ANIMAIS - UMA REVISÃO SISTEMÁTICA** encaminhado ao Corpo Científico recebeu parecer favorável para publicação na Dental Press Endodontics em espaço e data a serem definidos.

Agradecemos pela escolha de nossa editora para o envio de seu trabalho, ressaltando que nos sentiremos honrados em receber outros artigos para futuras publicações.

Caro Dr. Cook após as correções sugeridas pelos revisores seu artigo foi aceito para Publicação no Dental Press Endodontics. Obrigado por considerar o Dental Press Endodontic para publicação.