

CENTRO UNIVERSITÁRIO SAGRADO CORAÇÃO

JULIA MAZUR MENDES

**CITOTOXICIDADE E TEMPO DE PRESA DE UM NOVO
CIMENTO REPARADOR DE SILICATO DE CÁLCIO**

BAURU

2022

CENTRO UNIVERSITÁRIO SAGRADO CORAÇÃO

JULIA MAZUR MENDES

Monografia de Iniciação Científica do Curso de Odontologia do Centro de Ciências da Saúde apresentado à Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação no Centro Universitário Sagrado Coração, sob orientação do Prof. Dr. Guilherme Ferreira da Silva.

BAURU
2022

Mendes, Julia Mazur
M538c

Citotoxicidade e tempo de presa de um novo cimento reparador de silicato de cálcio / Julia Mazur Mendes. -- 2022.
12f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Ferreira da Silva

Monografia (Iniciação Científica em Odontologia) - Centro Universitário Sagrado Coração - UNISAGRADO - Bauru - SP

1. Silicato de cálcio. 2. Endodontia. 3. Citotoxicidade. 4. Propriedades físico químicas. I. Silva, Guilherme Ferreira da. II. Título.

SUMÁRIO

1. Introdução e Revisão da Literatura	6
2. Proposição.....	7
3. Justificativa.....	7
4. Material e métodos.....	8
4.1 Citotoxicidade.....	8
4.2 Tempo de presa inicial e final	9
5. Resultados.....	10
5.1 Citotoxicidade.....	10
5.2 Tempo de presa	11
6. Discussão.....	11
7. Conclusões	12
8. Referências.....	13
ANEXOS.....	16
1. CARTA DE DISPENSA DE APRESENTAÇÃO AO CEP OU CEUA	16
2. APRESENTAÇÃO DE TRABALHOS EM EVENTOS CIENTÍFICOS	17

RESUMO

Os cimentos de silicato de cálcio apresentam algumas vantagens em relação aos demais materiais endodônticos em virtude de sua biocompatibilidade e adaptação marginal. Aqueles com uma consistência mais espessa (cimentos reparadores) podem ser utilizados no selamento das comunicações entre o periodonto e a cavidade pulpar, tais como, selamento de perfuração radiculares e reabsorções dentinárias. Dentre estes cimentos reparadores, há o Sealer Plus BC UNIDOSE cujos trabalhos na literatura são escassos. Assim, este estudo teve como objetivo analisar a citotoxicidade e o tempo de presa inicial e final do Sealer Plus BC UNIDOSE em comparação ao Biodentine. Após a manipulação, os materiais foram avaliados quanto à sua citotoxicidade por meio do teste do MTT em células pré-odontoblásticas. Além disso, agulhas de Gilmore foram utilizadas para determinação do tempo de presa inicial e final dos materiais. Ao final, todos os dados obtidos foram submetidos à ANOVA e ao teste de Tukey ($p \leq 0,05$). No período de 24 h, foi verificado que ambos os cimentos apresentaram uma viabilidade menor quando comparado ao grupo controle positivo ($p \leq 0,05$). No entanto, após 48h e 72h, tanto o cimento Sealer Plus UNIDOSE quanto o Biodentine apresentaram baixa citotoxicidade, semelhante ao controle positivo. Em todos os períodos, o controle negativo apresentou diferença significativa, demonstrando baixa viabilidade e até morte celular ($p < 0,0001$), quando comparado ao grupo controle positivo e aos cimentos avaliados. Os resultados do tempo de presa inicial evidenciaram diferenças significantes entre os materiais, sendo que, o Biodentine apresentou um tempo de presa inicial maior do que o Unidose ($p \leq 0,05$). No entanto, não foram observadas diferenças significantes nos valores do tempo de presa final entre os materiais. Pode-se concluir que Sealer Plus BC Unidose apresenta baixa citotoxicidade e tempo de presa final semelhante ao Biodentine. Assim, considerando estes dois parâmetros o Sealer Plus BC Unidose pode ser considerado na prática clínica como material reparador. No entanto, outros estudos de diferentes propriedades físicas, químicas e biológicas são necessárias para validar esta indicação.

palavras-chave: Silicato de cálcio, endodontia, citotoxicidade, propriedades físico-químicas.

1. Introdução e Revisão da Literatura

Os materiais de silicato de cálcio surgiram, inicialmente, com o objetivo de selar comunicações entre a cavidade pulpar e o periodonto (LEE *et al.*, 1993; PARIROKH e TORABINEJAD 2010). Por sua consistência densa, posteriormente, foi preconizado em várias situações clínicas, tais como, no preenchimento de cavidades retrógradas, no selamento de perfurações radiculares e como tampão apical em dentes com rizogênese incompleta (PARIROKH e TORABINEJAD 2010).

Uma das vantagens frequentemente atribuída aos materiais de silicato de cálcio é sua biocompatibilidade quando comparado a outros produtos comercialmente disponíveis (TORABINEJAD *et al.*, 1997; SILVA *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2021). Estudos *in vivo* mostraram que o MTA é capaz de induzir a formação de osso, dentina e cimento, favorecendo a reparação do periodonto (TORABINEJAD *et al.*, 1997; Baek *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2011). Tem sido reportado que, em tecido subcutâneo de ratos, este material induz uma reação inflamatória moderada (SILVA *et al.*, 2015).

Além disso, estudos têm sugerido que o MTA é um material bioativo por induzir a deposição de cristais com características semelhantes à apatita (REYES-CARMONA *et al.*, 2009; REYES-CARMONA *et al.*, 2010). Em contato com a dentina, o MTA promove um processo de biomineralização que ocasiona a formação de uma camada na interface dentina-MTA com estruturas semelhantes à *tags* (REYES-CARMONA *et al.*, 2009; REYES-CARMONA *et al.*, 2010). A formação destes depósitos torna-se maior ao longo do tempo, resultando em uma camada maior e mais compacta (REYES-CARMONA *et al.*, 2010).

O Biodentine (Septodont® Inc., Saint Maurdes Fossés, França) é um biomaterial à base de trissilicato de cálcio, contendo ZrO₂, considerado biocompatível (MORI *et al.*, 2014; FONSECA *et al.*, 2016) e bioativo (LAURENT *et al.*, 2008), o qual tem sido indicado para restaurações coranárias e radiculares, capeamento pulpar e pulpotomia, selamento de perfurações e retro-obturações. Este material é composto, em seu pó, por trissilicato de cálcio (80,1%), carbonato de cálcio (14,9%) e 5% de óxido de zircônio, utilizado como radiopacificador. A solução aquosa contém cloreto de cálcio (CaCl₂) e policarboxilato, um polímero hidrossolúvel com efeito surfactante. O policarboxilato é um polímero hidrossolúvel o qual reduz a quantidade de água necessária bem como possibilita uma mistura mais homogênea. Por sua vez, o carbonato de cálcio

adicionado ao pó aumenta a disponibilidade de cálcio e confere biocompatibilidade ao material (CAMILLERI *et al.*, 2012). Avaliações *in vivo* já observaram que Biodentine exibe bons resultados quando utilizado em pulpotomias (SHAYEGAN *et al.*, 2012) e em capeamento pulpar (TRAN *et al.* 2012; NOWICKA *et al.* 2013).

Além disso, já foi demonstrado que o Biodentine promove uma reação inflamatória suave, semelhante ao MTA-Angelus, no tecido subcutâneo de ratos. Além disso, em períodos experimentais longos, este material promove uma menor expressão de interleucina-6, uma citocina pró-inflamatória, e a formação de colágeno nas cápsulas em íntimo contato com este material (FONSECA *et al.* 2016; (MONDELLI *et al.*, 2019).

Recentemente, foi lançado no mercado nacional um novo cimento reparador, o Sealer Plus BC UNIDOSE (MK LIFE, Porto Alegre, RS, Brasil). Segundo o fabricante, este material apresenta uma consistência mais densa para ser utilizado em diferentes aplicações clínicas e é composto por silicato di e tricálcio, hidróxido de cálcio e propilenoglicol. No entanto, escassos são os estudos que avaliem as propriedades deste material.

Assim, torna-se oportuno, portanto, um estudo que avalie algumas propriedades deste novo material em comparação ao Biodentine que apresenta aplicações clínicas semelhantes.

2. Proposição

O presente estudo teve por objetivo investigar algumas propriedades do Sealer Plus BC UNIDOSE em comparação ao Biodentine. Para isso, serão verificados:

- A citotoxicidade dos dois materiais;
- O tempo de presa inicial e final dos cimentos reparadores.

3. Justificativa

O MTA tem sido considerado o material de escolha em casos de retrobturação por apresentar selamento marginal e biocompatibilidade superior aos demais produtos existentes, no entanto, a sua consistência arenosa, dificulta a inserção no local desejado é uma das suas desvantagens.

O Sealer Plus BC UNIDOSE (MK LIFE, Porto Alegre, RS, Brasil) é um novo cimento reparador que, segundo o fabricante, apresenta uma consistência densa para ser utilizado em

diferentes aplicações clínicas. No entanto, escassos são os estudos na literatura que avaliem as propriedades deste material.

4. Material e métodos

No presente estudo, foram realizados os testes de citotoxicidade e do tempos de presa inicial e final do Sealer Plus BC UNIDOSE e do Biodentine.

4.1 Citotoxicidade

Para o cultivo celular, foram utilizados pré-osteoblastos de camundongo da linhagem MC3T3-E1 (ATCC®). As células foram cultivadas em α -MEM (Meio Mínimo Essencial Alfa - Gibco®), suplementado com 1% de antibiótico (Penicilina/Estreptomicina - Gibco®) e 10% SFB (Soro Fetal Bovino- Gibco®), permanecendo em incubadora à 37°C contendo 5% de CO₂. Após atingirem o estágio de subconfluência, as células foram subcultivadas (tripsinizadas) utilizando-se a enzima tripsina, responsável por dissociar as células do frasco de cultura (0,25% tripsina, 1mM EDTA- Sigma-Aldrich®), após 5 minutos em incubadora à 37°C com 5% de CO₂, a tripsina será inativada com meio de cultura α -MEM com 10% SFB.

As células foram transferidas para um tubo falcon de 50 ml (Corning®) e centrifugadas a 1.200 rpm por 5 minutos a 20°C. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e as células foram ressuspensas em um novo meio. Em seguida, fez-se a contagem celular por meio do protocolo azul de tripan. Este corante é responsável por corar as células inviáveis. Posteriormente, as células foram utilizadas para os ensaios experimentais.

Para os ensaios de viabilidade foram plaqueadas 3x10³ células/poço em placas de 96 poços (Corning®). Após incubação por 24h, o meio de cultivo foi substituído por meio α -MEM 10% SFB condicionado ou não. Para cada placa, foi analisado um período experimental de 24 h, 48 h e 72 h após a adição do meio condicionado ou não. Após cada período experimental, o meio de cultura foi removido, as células foram lavadas com solução tampão PBS e em seguida foi realizado o ensaio de redução do MTT.

A análise da atividade mitocondrial das células foi realizada pelo método da redução do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl) -2,5- difeniltetrazólio) (Mossman, 1983). Esse teste quantifica a conversão do MTT, que é solúvel em água, em um formazan insolúvel. O formazan, de cor azul purpúrea, é solubilizado e, então, sua concentração pode ser determinada pela

densidade óptica em espectrofotômetro. Após os períodos experimentais (24, 48 e 72 h) as células foram lavadas com PBS, e em seguida incubadas numa solução de 0,5 mg de MTT para 1ml de α -MEM sem SFB (OLIVEIRA *et al*, 2016).

Após esse procedimento, as placas permaneceram em incubadora por 4h a 37°C e 5% de CO₂; em seguida a solução foi removida, o pigmento insolúvel reduzido intracelularmente foi extraído em DMSO (dimetilsulfóxido) e deixado em temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente, a absorbância foi mensurada a 550 nm (Leitora Synergy h1 Monochromator-based Biotek) (OLIVEIRA *et al*, 2016).

4.2 Tempo de presa inicial e final

Para determinação do tempo de presa, foram confeccionados 5 corpos de prova para cada material, por meio da utilização de anéis metálicos com 10 mm de diâmetro e 1 mm de altura, seguindo as normas da ISO e da ASTM. A avaliação do tempo de presa seguiu também a metodologia adotada por Bortoluzzi *et al.* (2008) com avaliações a cada 5 minutos durante a primeira meia hora, 5 minutos até as 2 primeiras horas e a cada 10 minutos até atingir o tempo de presa final. Para determinar a presa inicial, foi utilizada agulha de Gilmore com massa de $100 \pm 0,5$ g e diâmetro de $2 \pm 0,1$ mm apoiada sobre a superfície do cimento. Posteriormente, uma agulha de Gillmore de $456 \pm 0,5$ g, e ponta de $1 \pm 0,1$ mm de diâmetro foi colocada verticalmente sobre a superfície do material para determinar o tempo de presa final. Durante toda a análise, os materiais foram mantidos na estufa durante a análise e a agulha foi limpa entre os ensaios.



Figura 1. (A) Agulhas de Gilmore de 113,5g para determinar a presa inicial e a de 453,5g para a presa final dos espécimes. (B) Mensuração do tempo de presa com a agulha de Gilmore.

- **Análise estatística**

Os resultados quantitativos obtidos foram submetidos à análise estatística com o auxílio do programa Sigma Stat 2.0 (Jandel Scientific, Sausalito, CA). Aos dados foi aplicado o teste estatístico paramétrico ANOVA para comparação dos diferentes grupos entre si dentro de cada período experimental, para posteriormente, quando observada diferença significativa em nível de 5%, realizar a comparação entre os materiais, dois a dois, pelo teste de comparações múltiplas de Tukey.

5. Resultados

5.1 Citotoxicidade

No período de 24 h, foi verificado que ambos os cimentos apresentaram uma viabilidade menor quando comparado ao grupo controle positivo ($p \leq 0.05$). No entanto, após 48h e 72h, tanto o cimento Sealer Plus UNIDOSE quanto o Biodentine apresentaram baixa citotoxicidade, semelhante ao controle positivo. Em todos os períodos, o controle negativo apresentou diferença significativa, demonstrando baixa viabilidade e até morte celular ($p < 0.0001$), quando comparado ao grupo controle positivo e aos cimentos avaliados.

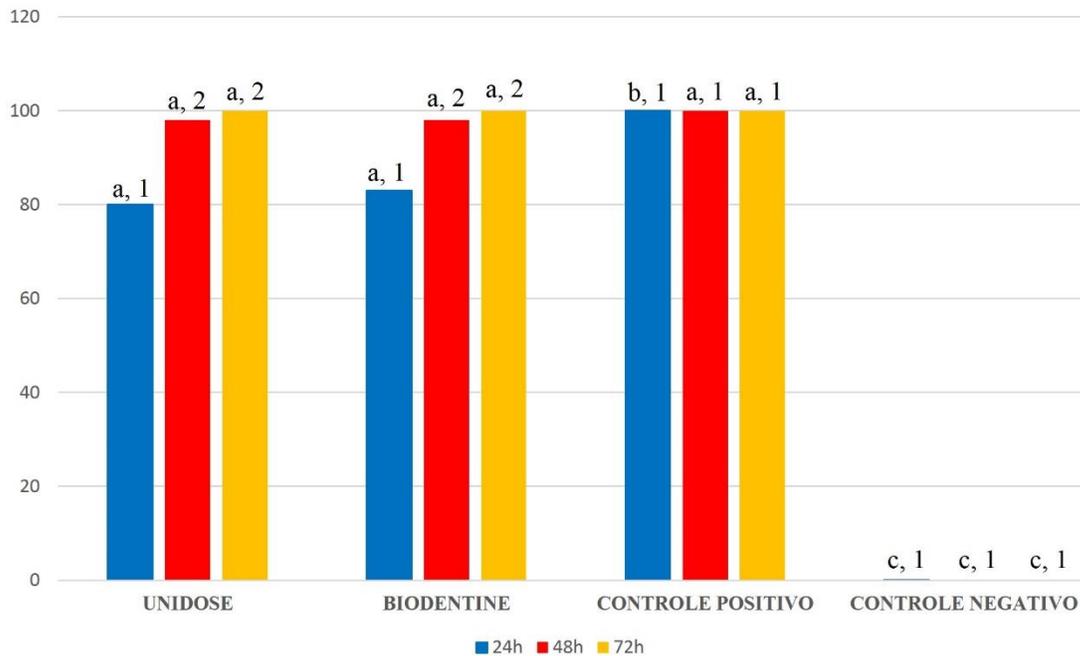


Figura 2. Médias da viabilidade celular (em %) após os períodos experimentais para os materiais avaliados. Diferentes letras indicam a comparação entre os grupos experimentais ($p \leq 0.05$);

diferentes números indicam a comparação entre os períodos experimentais em cada grupo ($p \leq 0.05$).

5.2 Tempo de presa

Os resultados do tempo de presa inicial evidenciaram diferenças significantes entre os materiais, sendo que, o Biodentine apresentou um tempo de presa inicial maior do que o Unidose ($p \leq 0.05$). No entanto, não foram observadas diferenças significantes nos valores do tempo de presa final entre os materiais.

Tabela 1 – Médias e desvio padrão do Tempo de Presa Inicial (TPI) e Tempo de Presa Final (TPF) em minutos.

Material	TPI	TPF
UNIDOSE	26,60 (4,5) ^a	87,28 (8,9) ^a
Biodentine	42,20 (6,8) ^b	86,80 (9,2) ^a

Letras sobrescritas indicam diferença estatística significante entre os materiais para o TPI e o TPF ($p \leq 0.05$).

6. Discussão

Os materiais de silicato de cálcio tem sido considerados o de escolha em casos de retrobturação por apresentar selamento marginal e biocompatibilidade superior aos demais produtos existentes (Lee et al. 1993; Silva et al., 2022), no entanto, a sua consistência arenosa, dificultando a inserção no local desejado é uma das suas desvantagens (Torabinejad et al. 2018). Assim, no intuito de adquirir materiais com propriedades clínicas mais favoráveis diferentes tipos de produtos vem sendo desenvolvidos. No presente estudo, foram avaliados o tempo de presa e a citotoxicidade de 2 materiais a base de silicato de cálcio.

O Biodentine (Septodont® Inc., Saint Maurdes Fossés, França) é um biomaterial à base de trissilicato de cálcio, contendo ZrO_2 , considerado biocompatível (MORI *et al.*, 2014; FONSECA *et al.*, 2016) e bioativo (LAURENT *et al.*, 2008), o qual tem sido indicado para restaurações coranárias e radiculares, capeamento pulpar e pulpotomia, selamento de perfurações e retro-obturações. Já observaram que Biodentine exibe bons resultados quando utilizado em pulpotomias (SHAYEGAN et al., 2012) e em capeamento pulpar (TRAN *et al.* 2012; NOWICKA *et al.* 2013) e promove uma reação inflamatória suave no tecido subcutâneo de ratos. Além disso, em períodos experimentais longos, este material promove uma menor expressão de interleucina-6, uma citocina

pró-inflamatória, e a formação de colágeno nas cápsulas em íntimo contato com este material (FONSECA *et al.* 2016; (MONDELLI *et al.*, 2019). O Sealer Plus BC UNIDOSE, apresenta uma consistência mais densa para ser utilizado em diferentes aplicações clínicas, porém, escassos são os estudos que avaliem as propriedades deste material.

Os resultados para o tempo de presa mostram que o Sealer Plus BC Unidose apresenta um tempo de presa inicial menor do que o Biodentine. . Este resultado pode estar relacionado à uma menor quantidade de silicato de cálcio em sua composição o que interfere no mecanismo de hidratação e aumenta o tempo de presa (Camilleri 2007). No entanto, ao final ambos os materiais apresentaram tempo de presa semelhantes. Sabe-se que materiais com longo tempo de presa estão mais sujeitos à dissolução, porém, é necessário um tempo de trabalho adequado para utilização durante a prática clínica (Vivan *et al.*, 2010).

Nossos resultados *in vitro* da citotoxicidade evidenciaram que todas as pastas de hidróxido de cálcio promoveram a viabilidade celular em todos os períodos experimentais. Já foi amplamente demonstrado que materiais contendo Ca(OH)_2 ou como produto de sua reação de hidratação não são citotóxicos (Cintra *et al.*, 2017) No entanto, o Sealer Plus BC Unidose apresentou menor toxicidade após 24 horas o que pode estar relacionado a um tempo de presa inicial menor deste material em comparação ao Biodentine.

Tendo em vista as limitações da metodologia do presente estudo, e as propriedades avaliadas, nossos dados mostram que o Sealer Plus BC Unidose e o Biodentine apresentam citotoxicidade e tempo de presa semelhantes ao Biodentine.

7. Conclusões

Os dados do presente estudo mostraram que o material Sealer Plus BC Unidose apresenta baixa citotoxicidade e tempo de presa final semelhante ao Biodentine. Assim, considerando estes dois parâmetros o Sealer Plus BC Unidose pode ser considerado na prática clínica como material reparador. No entanto, outros estudos de diferentes propriedades físicas, químicas e biológicas são necessárias para validar esta indicação.

8. Referências

- BAEK SH, PLENK H JR, KIM S. Periapical tissue responses and cementum regeneration with amalgam, SuperEBA, and MTA as root-end filling materials. **Journal of Endodontics**, 31:444-9, 2005.
- BORTOLUZZI EA, et al. Mineral Trioxide Aggregate with or without Calcium Chloride in Pulpotomy. **Journal of Endodontics**, 34(2):172-5, 2008.
- CAMILLERI J. Hydration mechanisms of mineral trioxide aggregate **International Endodontic Journal**, v. 40, p. 462-70, 2007.
- CAMILLERI, J, KRALJ, P., VEBER, M., SINAGRA, E. Characterization and analyses of acid-extractable and leached trace elements in dental cements. **International Endodontic Journal**, v.45(8), p.737-743, 2012.
- FONSECA, T. S., DA SILVA, G. F., TANOMARU-FILHO, M., SASSO-CERRI, E., GUERREIRO-TANOMARU, J.M., CERRI, P. S. In vivo evaluation of the inflammatory response and IL-6 immunoexpression promoted by Biodentine and MTA Angelus. **International Endodontic Journal**. v. 49(2), p.145-153, 2016.
- LAURENT, P., CAMPS, J., DE MEO, M., DEJOU, J., ABOUT, I. Induction of specific cell responses to a Ca₃SiO₅-based posterior restorative material. **Dental Materials**. v. 24, p. 486–1494, 2008.
- LEE SJ, MONSEF M, TORABINEJAD M. Sealing ability of mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. **Journal of Endodontics**, 19:541-4, 1993.
- PARIROKH M, TORABINEJAD M. Mineral Trioxide Aggregate: A comprehensive literature review – part I: chemical, physical and antibacterial properties. **Journal of Endodontics**, 36:16-27, 2010.
- MONDELLI JAS, HOSHINO RA, WECKWERTH PH, CERRI PS, LEONARDO RT, GUERREIRO-TANOMARU JM, TANOMARU-FILHO M, DA SILVA GF. Biocompatibility of mineral trioxide aggregate flow and biodentine. **International Endodontic Journal** , 52:193-200, 2019.
- MORI, G.G., TEIXEIRA, L.M., LOUZADA DE OLIVEIRA, D., JACOMINI, L.M., RODRIGUES DA SILVA, S. Biocompatibility evaluation of Biodentine in subcutaneous tissue of rats. **Journal of Endodontics**. v. 40, p. 1485–1488, 2014.

OLIVEIRA FA, MATOS AA, SANTESSO MR, TOKUHARA CK, LEITE AL, BAGNATO VS, MACHADO MA, PERES-BUZALAF C, OLIVEIRA RC. Low intensity lasers differently induce primary human osteoblast proliferation and differentiation. **J Photochem Photobiol B**, 163:14–21, 2016.

REYES-CARMONA JF, FELIPPE MS, FELIPPE WT. Biomineralization ability and interaction of mineral trioxide aggregate and white Portland cement with dentin in a phosphatecontaining fluid. **Journal of Endodontics**, 35:731–6, 2009.

REYES-CARMONA JF, et al. Host-mineral trioxide aggregate inflammatory molecular signaling and biomineralization ability. **Journal of Endodontics**, 36:1347–53, 2010.

SILVA GF, COELHO LAS, COSTA VAS, et al. Laboratory study of tissue repair of resin-based endodontic sealers in critical surgical defects. **Journal of Applied Oral Science**, 1;30:e20220108, 2022.

SILVA GF, GUERREIRO-TANOMARU JM, SASSO-CERRI E, TANOMARU-FILHO M, CERRI PS. Histological and histomorphometrical evaluation of furcation perforations filled with MTA, CPM and ZOE. **International Endodontic Journal**, 44:100-10, 2011.

SILVA GF, GUERREIRO-TANOMARU JM, SASSO-CERRI E, TANOMARU-FILHO M, CERRI PS. Histological and histomorphometrical evaluation of furcation perforations filled with MTA, CPM and ZOE. **International Endodontic Journal**, Feb;44(2):100-10, 2011.

SILVA GF, TANOMARU-FILHO M, BERNARDI MI, GUERREIRO-TANOMARU JM, CERRI PS. Niobium pentoxide as radiopacifying agent of calcium silicate-based material: evaluation of physicochemical and biological properties. **Clinical Oral Investigations** 19:2015-25, 2015.

SILVA ECA, TANOMARU-FILHO M, SILVA GF, LOPES CS, CERRI PS, GUERREIRO TANOMARU JM. Evaluation of the biological properties of two experimental calcium silicate sealers: an in vivo study in rats. **International Endodontic Journal** 54(1):100-111, 2021.

VIVAN RR, ORDINOLA-ZAPATA R, ZEFERINO MA, et al. Evaluation of the physical andchemical properties of two commercial and three experimental root-end filling materials. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics**, v. 110, p. 110:250–6, 2010.

TORABINEJAD M, PITT FORD TR, MCKENDRY DJ, ABEDI HR, MILLER DA, KARIYAWASAM SP. Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root-end filling in monkeys. **Journal of Endodontics**, 23:225-8, 1997.

ANEXOS

1. CARTA DE DISPENSA DE APRESENTAÇÃO AO CEP OU CEUA



CARTA DE DISPENSA DE APRESENTAÇÃO AO CEP OU CEUA

À

COORDENADORIA DO PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNISAGRADO

Informo que não é necessária a submissão do projeto de pesquisa intitulado CITOTOXICIDADE E TEMPO DE PRESA DE UM NOVO CIMENTO REPARADOR DE SILICATO DE CÁLCIO, ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) ou à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) uma vez que, a presente pesquisa é *in vitro* e não envolve, portanto, animais e/ou humanos.

Atenciosamente,

|

PROF DR. GUILHERME FERREIRA DA SILVA

Bauru, 04 de abril de 2021

2. APRESENTAÇÃO DE TRABALHOS EM EVENTOS CIENTÍFICOS

